



UNIVERSITA' DI PISA
Dipartimento di Scienze Veterinarie
Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria

Confronto tra Sepsis e SIRS Score in una popolazione di puledri ospedalizzati

Candidato: Costanza Bernardini

Relatori: Dott.ssa Micaela Sgorbini

Dott.ssa Francesca Bonelli

ANNO ACCADEMICO 2013-2014

A mio nonno Silvano

INDICE

CAPITOLO₁: La SEPSI e la SIRS 6

1.1 DEFINIZIONI	7
1.2 PATOGENESI della SEPSI	9
1.3 DIAGNOSI della SEPSI	12
1.3.1 DIAGNOSI CLINICA	12
1.3.2 DIAGNOSI di LABORATORIO	13

CAPITOLO₂: Il SEPSIS SCORE..... 15

2.1 SEPSIS SCORE in MEDICINA UMANA.....	16
2.2 SEPSIS SCORE in MEDICINA VETERINARIA	18
2.2.1 SEPSIS SCORE nel CAVALLO	18
2.2.2 SEPSIS SCORE nel CANE.....	22
2.2.3 SEPSIS SCORE nel GATTO	23
2.2.4 SEPSIS SCORE nel BOVINO	24

CAPITOLO₃: Il SIRS SCORE26

3.1 SIRS SCORE in MEDICINA UMANA.....	27
3.2 SIRS SCORE in MEDICINA VETERINARIA.....	30
3.2.1 SIRS SCORE nel CAVALLO.....	30
3.2.2 SIRS SCORE nel CANE.....	32
3.2.3 SIRS SCORE nel GATTO	35

CAPITOLO₄: SIRS: LATTATEMIA e GLICEMIA36

4.1 La LATTATEMIA in corso di SIRS	36
4.2 La GLICEMIA in corso di SIRS	39

CAPITOLO5: PARTE SPERIMENTALE..... 41

5.1 MATERIALI e METODI 42

5.1.1 DATI CLINICI..... 42

5.1.2 DIAGNOSTICA DI LABORATORIO 45

5.1.3 DIAGNOSTICA PER IMMAGINI..... 47

5.1.4 COMPILAZIONE SEPSIS e SIRS SCORE 48

5.1.5 ANALISI STATISTICA 50

5.2 RISULTATI 52

5.3 DISCUSSIONI e CONCLUSIONI..... 56

BIBLIOGRAFIA59

RINGRAZIAMENTI70

RIASSUNTO

Parole chiave: Puledro, SIRS, Sepsis score

La SIRS è la manifestazione clinica della Sepsis. In medicina equina, la sepsi neonatale è una condizione di frequente riscontro che richiede un celere approccio terapeutico. La clinica, la diagnostica di laboratorio e la diagnostica per immagini non forniscono rapide informazioni patognomoniche di questa, e sono stati pertanto sviluppati due indici rapidi di screening: il Sepsis ed il SIRS score. Il Sepsis score è un indice multi-parametrico elaborato, che analizzando un cospicuo numero di dati anamnestici, clinici e di laboratorio permette la valutazione del puledro settico con un certo grado di accuratezza. Il SIRS score esamina un minor numero di variabili, è più rapido, più economico ed è applicabile anche in condizioni di “campo”; di contro, possiede una specificità inferiore al primo. Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare le correlazione esistente tra SIRS score vs Sepsis score, glicemia, lattatemia, fibrinogenemia, neutrofilia ed emocoltura in una popolazione di puledri ospedalizzati, al fine di indirizzare il clinico verso il test di screening più vantaggioso.

ABSTRACT

Key words: Foal, SIRS, Sepsis score

SIRS is the clinical manifestation of Sepsis. In equine medicine, neonatal sepsis is a condition frequently encountered that requires a rapid therapeutic approach. The clinic, laboratory and imaging diagnostics do not provide rapid and pathognomonic information of this condition, and therefore were developed two rapid screening indexes: the Sepsis and the SIRS score. The Sepsis score is a multi-parameter elaborated indicator that, by analysing a large number of medical history, clinical and laboratory data, allows the evaluation of the septic foal with a certain accuracy level. The SIRS score examines a smaller number of variables, it is faster, cheaper and is applicable even in conditions of "field"; on the other side it is less specific than the first one. The aim of this work is to evaluate the correlation between SIRS score, Sepsis score, glucose, lactate, fibrinogen, neutrophilia and blood culture in a population of hospitalized foals, in order to direct the clinician toward a more advantageous screening test.

CAPITOLO 1

La SEPSI e la SIRS

La parola “sepsi” trae la sua origine etimologica dal termine “σῆψις”, che in greco sta a significare putrefazione. In ogni caso, anche se questa parola è stata impiegata per più di 2700 anni, è stato solo recentemente che si è iniziato a comprendere i meccanismi patogenetici che ne stanno alla base.

Ciò ha permesso di mettere a punto nuovi interventi terapeutici ed, al contempo, ha reso necessario una revisione della sua definizione (Vincent, 2009).

Nel 1989 Roger Bone definì la “Sepsis Syndrome” come la presenza di ipotermia (temperatura corporea inferiore a 35,5 °C) o ipertermia (temperatura corporea superiore a 38,3 °C), tachicardia (battiti cardiaci maggiori di 90), tachipnea (atti respiratori al minuto superiori a 20), evidenza clinica di un sito d’infezione o inadeguata perfusione d’organo (Bone, 1989).

1.1 DEFINIZIONI

Nel 1991 l'ACCP/SCCM Consensus Conference ha riconosciuto la medesima risposta infiammatoria sistemica in pazienti che presentavano una grave infezione ed in quelli in cui il processo infiammatorio non era associato ad una forma infettiva ma era bensì secondario a pancreatiti, traumi multipli, ischemia, ustioni ecc.

E' stato quindi definito che, con il termine Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS), si intende la risposta infiammatoria sistemica a gravi insulti di varia natura. Essa si riscontra quando sono presenti contemporaneamente due o più dei seguenti criteri:

- Temperatura Corporea $> 38^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca > 90 battiti/min;
- Frequenza respiratoria > 20 apm o iperventilazione con $\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg;
- WBC > 12 K/ μl o < 4 K/ μl , oppure neutrofili banda $> 10\%$.

L'associazione di una risposta infiammatoria sistemica (SIRS) con la presenza di un processo infettivo è definita **Sepsi**.

Si parla invece di **Shock settico** quando si fa riferimento ad una sepsi accompagnata da uno stato ipotensivo, non rispondente ad un'adeguata fluidoterapia, ma bensì associato ad ipo-perfusione sistemica con acidosi lattica, oliguria ed alterazioni dello stato del sensorio.

La **Batteriemia** è definita come la presenza di batteri vitali nel sangue.

Rientra, infine, nella definizione di **Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS)** la condizione clinica caratterizzata da alterata funzione d'organo, in presenza di una risposta infiammatoria di fase acuta, tale che l'omeostasi non può essere fisiologicamente mantenuta (ACCP/SCCM Consensus Conference, 1992).

Nel 2001 l'International Sepsis Definition Conference ha confermato le definizioni cliniche proposte nel 1991 dall'ACCP/SCCM Consensus Conference.

Con lo scopo di aiutare i clinici nel riconoscimento e nella diagnosi precoce di sepsi severa, la Conferenza ha fornito un elenco dei segni e sintomi clinici più comuni in corso di sepsi.

Inoltre, facendo riferimento al modello TNM adoperato nella clinica oncologica, è stato messo a punto il sistema PIRO per la stadiazione del processo settico (Levy et al., 2003; Patrozou e Opal, 2011).

Il sistema PIRO prende in esame i seguenti fattori:

- **Predisposition:** fattori predisponenti lo sviluppo di sepsi (età, sesso, stato fisiologico, immunodeficienze e deficit coagulativi ereditari);
- **Infection:** organismi patogeni in causa (tipo, virulenza, grado di tossicità, prevalenza nell'ambiente);
- **Response:** indici di flogosi (PCT, IL-6, HLA-DR, TNF, PAF);
- **Organ dysfunction:** tipologia, numero e gravità degli organi coinvolti dal processo settico che hanno subito un'alterazione nella loro funzionalità (Levy et al., 2003; Patrozou e Opal, 2011).

1.2 PATOGENESI della SEPSI

La sepsi può essere causata da una moltitudine di agenti infettivi, compresi i batteri Gram positivi e negativi, i funghi ed i virus (Vaala et al, 2009).

Le difese immunitarie innate, nei confronti di questi agenti infettivi sono rappresentate principalmente dall'integrità della barriera mucosa, dalla protezione garantita dai fagociti (essenzialmente neutrofili, monociti e macrofagi) e da specifiche molecole, quali i Pattern Recognition Receptors (PRRs), le Immunoglobuline, il Complemento e le proteine infiammatorie di fase acuta. Esistono poi dei meccanismi di difesa specifici di ogni singolo apparato (vedi ad esempio la presenza dell'epitelio ciliato a livello tracheale, di muco e del pH acido gastrico). Qualora l'agente infettivo riesca a superare i meccanismi di difesa dell'ospite, invaderà i tessuti meno superficiali, generando una risposta infiammatoria più o meno marcata (Mc Kenzie e Furr, 2001).

Per quanto concerne la sepsi nel puledro, sono stati individuati alcuni fattori di rischio. Tra quest'ultimi riconosciamo la placentite, lo scolo vulvare prenatale, le patologie della fattrice e/o il suo trasporto prolungato, la distocia, il parto indotto, la prematurità, la dismaturità e la postmaturità neonatale, il mancato trasferimento dell'immunità passiva (FPT) e la presenza di infezioni localizzate nel neonato (ad esempio uveite anteriore, diarrea, polmonite, artrite infettiva, ferite aperte) (Mc Kenzie e Furr, 2001).

Gli organismi patogeni possono infettare il puledro attraverso diverse vie. Durante la vita intrauterina, infatti, il feto può essere esposto ad agenti infettivi che sono penetrati attraverso la barriera placentare e che hanno poi raggiunto il torrente circolatorio. I batteri associati a patologie placentari possono, quindi, penetrare nel liquido amniotico, ottenendo in tal modo l'accesso all'apparato respiratorio e gastroenterico fetale (Mc Kenzie e Furr, 2001).

Dopo la nascita, l'infezione si può verificare per contaminazione del moncone ombelicale o di ferite aperte e per ingestione o inalazione di patogeni (Mc Kenzie e Furr, 2001).

Per quanto riguarda il fenomeno infettivo sostenuto da batteri Gram negativi, una volta raggiunto il torrente circolatorio, le molecole LPS presenti sulla loro capsula, si legano stabilmente alle LPS-binding protein (LBP). La molecola così ottenuta interagisce con i recettori CD14 presenti sulla superficie dei macrofagi e dei monociti circolanti. Questo complesso è responsabile dell'attivazione macrofagica mediante il legame con i recettori di membrana TLR. Lo sviluppo della risposta infiammatoria è in funzione del rilascio, da parte dei macrofagi attivati, di numerosi mediatori infiammatori, incluse le citochine pro-infiammatorie (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12, IL-18), gli enzimi pro-infiammatori (PLA2, COX-2, NOs) e le molecole di adesione.

Le cellule danneggiate rilasciano istamina, serotonina, kinine, eicosanoidi, fattori di aggregazione piastrinica ed i fattori del complemento C3a e C5a. Queste molecole esplicano la loro azione prevalentemente a livello endoteliale, incrementando la permeabilità vascolare, con conseguente diapedesi fagocitaria. La cascata infiammatoria rilascia, quindi, ulteriori mediatori infiammatori, come le prostaglandine, il TXA-2, i leucotrieni e le specie reattive dell'ossigeno. L'aumento della temperatura corporea, la letargia e l'anoressia sono principalmente conseguenti al rilascio di TNF- α e IL-1. Quest'ultime stimolano il fegato a produrre proteine infiammatorie di fase acuta, le quali parteciperanno a diverse fasi del processo infiammatorio (attivazione del complemento, coagulazione, fibrinolisi, *carrier* circolatorio, inibizione delle proteasi neutrofiliche e modulazione della risposta infiammatoria). In particolare, quindi, esse prendono parte contemporaneamente al processo pro ed anti-infiammatorio, mediante l'inibizione dell'attivazione macrofagica (IL-4, IL-10, IL-13, corticosteroidi, TGF- β , PGE-2) ed antagonizzando i recettori per le citochine pro-infiammatorie.

Il bilancio tra i componenti pro ed anti-infiammatori è importante per determinare le caratteristiche della flogosi ed è ciò dipenderà lo sviluppo di una SIRS piuttosto che di una CARS (Compensator Anti-inflammatory Response Syndrome) (McKenzie e Furr, 2001).

Bisogna infine ricordare che l'endotelio, in corso di SIRS, rilascia in circolo due tipi di sostanze: l'Endothelium-derived relaxing factor (EDRF) e l'endotelina-1.

L'EDRF è stato identificato quale Ossido Nitrico (NO) ed è responsabile del rilassamento della muscolatura liscia, della depressione della funzionalità miocardica, della vasodilatazione e dell'inibizione dell'aggregazione piastrinica. L'endotelina-1 è un potente vasocostrittore.

A causa dell'incremento della permeabilità vascolare, si sviluppano sovente edema polmonare ed intestinale, ipovolemia, riduzione della gittata cardiaca ed ipotensione polmonare e sistemica (Vaala et al, 2009).

In contemporanea, cala la perfusione splancica ed è attivata la cascata della coagulazione con conseguenti disturbi coagulativi e DIC di grado variabile (per fibrinogenesi eccessiva e fibrinolisi inadeguata) (Weiss e Rashid, 1998).

L'adesione dei neutrofili all'endotelio, l'accumulo di fibrina, l'aggregazione piastrinica e l'impilamento eritrocitario provocano fenomeni di occlusione vascolare con ipo-perfusione tissutale, creazione di shunt artero-venosi, ipotensione ed ipovolemia (McKenzie e Furr, 2001).

Riassumendo, in corso di sepsi si sviluppano progressivamente ipossia, ipertensione, edema e collasso polmonare fino a giungere all'arresto respiratorio. Di pari passo si registra uno scompenso cardiaco con decremento della gittata cardiaca, grave ipotensione e sviluppo di un metabolismo cellulare di tipo anaerobio (Vaala et al, 2009).

1.3 DIAGNOSI della SEPSI

1.3.1 DIAGNOSI CLINICA

La sepsi è una patologia sistemica associata ad una moltitudine di manifestazioni cliniche.

In medicina umana alcuni autori riportano, tra i sintomi iniziali, uno stato di malessere generale, tachicardia, tachipnea, ipertermia e/o ipotermia, alterazione dello stato mentale e ipotensione. I pazienti possono presentare manifestazioni cliniche legate alla presenza di un sito d'infezione localizzato in uno specifico distretto corporeo, quali ad esempio tosse e dispnea, dolore addominale e disuria (Raghavan e Marik, 2006).

Le manifestazioni cliniche di sepsi nel puledro neonato comprendono depressione del sensorio, anoressia, decubito prolungato, disidratazione, tachicardia, tachipnea e ipo/ipertermia. Così come avviene in medicina umana, anche in corso di sepsi neonatale equina è possibile che queste alterazioni siano accompagnate da segni localizzati di infezione, quali diarrea, uveite, convulsioni, versamento articolare, distress respiratorio, ascessi sottocutanei, onfalite ed uraco persistente. Qualora la sepsi progredisca e si giunga allo shock settico avremo cianosi, tachicardia, polso debole ed estremità corporee fredde (indici di disturbi di circolo) (Sanchez, 2005).

1.3.2 DIAGNOSI di LABORATORIO

L'esame emocromocitometrico, il profilo biochimico e quello coagulativo, in corso di SIRS, evidenziano analoghe alterazioni sia in medicina umana sia veterinaria. Esse sono: leucopenia/leucocitosi, neutropenia/neutrofilia (con left shift degenerativo e segni cellulari di tossicità), iperfibrinogenemia, ipoglicemia, azotemia, iperbilirubinemia, acidosi (metabolica, respiratoria o mista) iperlattatemia, necrosi tubulare acuta e proteinuria.

Il profilo coagulativo risulta anch'esso alterato con diminuzione di ATIII ed incremento di PT, APTT e FDP, che predispongono il paziente a CID ed a emorragie spontanee (Sanchez, 2005; Raghavan e Marik, 2006).

Questi sintomi e segni sono rappresentativi di infiammazione sistemica ma non sono utili nel discriminare se la SIRS è associata o meno alla presenza di infezione (batterica o meno) (Raghavan e Marik, 2006).

Conseguentemente, per portare a termine questa distinzione sono stati presi in considerazione altri indicatori (PCT, TNF, IL-6, IL-1, CRP e lattato).

L'impiego della **PCT** è risultato più significativo rispetto a quello di TNF, IL-6, IL-1 e CRP nel predire l'out come in pazienti critici. Tuttavia insulti di natura non infettiva, come chirurgie maggiori, traumi e disturbi circolatori prolungati, possono influenzare il rilascio di questi mediatori infiammatori, diminuendo in tal modo la loro specificità nel distinguere la sepsi dalle altre sindromi infiammatorie sistemiche (Raghavan e Marik, 2006; Riedel, 2012) .

Numerosi studi hanno poi valutato l'impiego del **lattato** come marker diagnostico, terapeutico e prognostico di ipossia tissutale in pazienti con ipoperfusione sistemica (Corley et al, 2005; Raghavan e Marik, 2006).

La positività all'**emocoltura** rimane l'unica testimonianza di batteriemia, ma questa modalità diagnostica presenta delle limitazioni. In primo luogo sono necessarie almeno 24 ore per poter ottenere risultati preliminari, secondariamente sono di facile riscontro false negatività, dovute principalmente alla raccolta di un volume di sangue inadeguato, alla presenza di una scarsa quantità di batteri in circolo al momento del prelievo o al trattamento antibiotico già in corso (Sanchez, 2005; Leth et al, 2013).

Per cercare di far fronte alle difficoltà nel diagnosticare precocemente la SIRS e la sepsi, sono stati sviluppati *SIRS* e *sepsis score*, i quali racchiudono al loro interno dati anamnestici, clinici e di laboratorio (Vaala et al, 2009).

CAPITOLO 2

II SEPSIS SCORE

In corso di risposta infiammatoria sistemica si assiste alla perdita funzionale progressiva di diversi organi ed apparati, quali ad esempio l'apparato cardiovascolare, respiratorio e digerente con interessamento renale, epatico e nervoso (Gupta e Jones, 2006).

Il Sepsis Score è un indice numerico, ottenuto dalla combinazione di score attribuiti a dati anamnestici, clinici e di laboratorio, statisticamente associati con la sepsi. Esso permette la stadiazione del paziente settico (Barton, 2006).

Ad ogni dato clinico preso in considerazione, corrispondono intervalli analitici di riferimento; più quell'intervallo si discosta dal range fisiologico per la specie, più il punteggio ad esso attribuito risulterà alto.

Dalla somma degli score attribuiti a tutti i parametri, si otterrà un valore che sarà in grado di fornire informazioni in merito alla gravità del processo settico e che varierà con le condizioni cliniche del paziente. Questo sistema può inoltre essere utile per comparare pazienti settici e studi eseguiti in ambienti diversi (Elebute e Stoner, 1983).

Altre importanti funzioni del Sepsis Score sono l'indirizzare il clinico ed il cliente verso un approccio terapeutico più o meno oneroso, consentendo la valutazione della risposta individuale a quest'ultimo (Nieuwenhoven et al., 1998).

2.1 SEPSIS SCORE in MEDICINA UMANA

In bibliografia non è riportato un unico Sepsis Score, bensì ne esistono diverse varianti.

Elebute e Stoner (1983) hanno classificato la sepsi mediante la valutazione di quattro grandi comparti; ogni comparto si compone di molteplici parametri, ai quali sono assegnati opportuni score.

I comparti sono:

1. Valutazione dei siti di infezione (ferite infette, peritonite, bronco-polmoniti, infezioni profonde);
2. Valutazione della temperatura;
3. Valutazione degli effetti secondari alla sepsi (ittero, acidosi metabolica, insufficienza renale, disturbi neurologici o di perfusione) ;
4. Valutazione dei parametri di laboratorio (emocultura, WBC, emoglobinemia, PLT, albuminemia, bilirubinemia).

Ad ogni variabile è associato uno score, che oscilla tra 1 e 6.

Questo Score è stato ideato per valutare la gravità del processo settico nei reparti ospedalieri, in particolare in quello di Terapia Intensiva (Elebute e Stoner, 1983).

Sempre nel 1983 Lawrence e Stevens hanno definito il Septic Severity Score (SSS) all'interno della gestione della sepsi in pazienti chirurgici. Esso valuta la funzionalità di sette organi e sistemi, ritenuti punti chiave nella sepsi, attribuendo ad essi uno score da 0 a 5. Gli apparati presi in considerazione sono stati quello respiratorio, cardiovascolare, gastroenterico, epatico, renale, circolatorio e nervoso. Il punteggio complessivo è risultato statisticamente associato con l'out-come del paziente.

Successivamente Dionigi e collaboratori (1985) hanno proposto una versione modificata dello score di Elebute e Stoner (1983) da applicare nel post-operatorio ai pazienti settici ricoverati in Terapia Intensiva. Lo score prevedeva l'impiego del Sepsis Score visto in precedenza con lievi modifiche.

Gli autori hanno impiegato tale score a partire dal giorno della diagnosi di sepsi e poi ogni 5-10 giorni fino alla dimissione del paziente o alla sua morte. In questo studio sono stati confrontati tra loro la somma dei singoli score, l'esito delle colture batteriche (realizzate a partire da vari liquidi biologici) e l'out-come del paziente.

Dominioni e colleghi (1987) hanno poi correlato quest'ultimo score con la misurazione delle proteine di fase acuta (A1AGP, A1AT, FB, C3) in pazienti ricoverati nel reparto di Terapia Intensiva, che riportavano infezioni chirurgiche.

Gli autori hanno applicato questo score a partire il giorno della diagnosi di sepsi e poi ogni 5-10 giorni fino alla dimissione del paziente o alla sua morte.

A conferma dello studio di Dionigi e colleghi (1985), è stato appurato che uno score complessivo maggiore di 20 è statisticamente associato ad una percentuale di sopravvivenza inferiore al 10%. Inoltre, nei pazienti con out-come sfavorevole, si denota un significativo decremento delle proteine infiammatorie di fase acuta, imputabile ad un loro maggior consumo (Dominioni et al., 1987).

Infine Ghanem-Zoubi e collaboratori (2011) hanno poi confrontato tra loro i seguenti score:

- Modified Early Warning Score (MEWS);
- Simple Clinical Score (SCS);
- Mortality in Emergency Department Sepsis score (MEDS);
- Rapid Emergency Medicine Score (REMS).

Tali score prendono in considerazione parametri diversi e sono stati applicati ad una popolazione di pazienti in cui la sepsi non era secondaria ad intervento chirurgico.

Da questo studio è emerso che il REMS score ed il SCS score possiedono un'accuratezza maggiore nel predire la morte in pazienti settici non chirurgici (Ghanem-Zoubi et al., 2011).

2.2 SEPSIS SCORE in MEDICINA VETERINARIA

2.2.1 SEPSIS SCORE nel CAVALLO

L'esperienza clinica suggerisce che la specie equina presenta una maggiore probabilità di incorrere in stati settici rispetto ad altre specie animali, così com'è maggiore la sua sensibilità all'endotossiemia (Roy, 2004).

Sebbene la sepsi possa essere indotta da agenti infettivi di varia natura (virus, batteri, funghi), l'eziologia batterica è la predominante nella sepsi equina (Roy, 2004).

E' dunque importante identificare i soggetti settici, al fine di improntare un adeguato trattamento terapeutico e determinarne la probabilità di sopravvivenza. L'identificazione dei puledri settici può non essere semplice in quanto, sebbene essi possano presentare una risposta infiammatoria sistemica, l'emocoltura può talora dare esito negativo ed i siti di infezione possono non essere evidenti. Per far fronte a questa esigenza, sono stati sviluppati i Sepsis Score (Mc Kenzie e Furr, 2001).

Nel 1988 Brewer e Koterba svilupparono il primo Sepsis Score e lo applicarono in un secondo momento ad una popolazione di 190 puledri di età inferiore a 13 giorni, ottenendo una sensibilità del 93% ed una specificità dell'86%. Lo score si compone dell'analisi di 14 variabili di ordine anamnestico, clinico e di laboratorio, alle quali è assegnato un punteggio compreso tra 0 e 4.

Information collected:		4	3	2	1	0	This case
I. CBC	Record exact#						
1. Neutrophil count (NOT TOTAL WBC)			<2.0 x 10 ⁹ /l	2.0-4.0 or > 12.0	8.0-12.0	Normal	
2. Band neutrophil count			> 0.2 x 10 ⁹ /l	0.05-0.20		< 0.05	
3. Doehle bodies toxic, granulation, or vacuolization in neutrophills		Marked	Moderate	Slight		None	
4. Fibrinogen (g/l)				> 6.0	4.1-6.0	≤ 4.0	
II. Other Laboratory Data							
1. Hypoglycemia				< 2.7 mmol/L	2.7-4.4	> 4.4	
2. Zinc sulphate turbidity test (g/l)		< 2.0	2.0-4.0	4.1-8.0		> 8.0	
3. Arterial oxygen			< 40 Torr	40-50	51-70	> 70	
4. Metabolic acidosis					Yes	No	
III. Clinical Examination							
1. Petechiation or scleral injection not secondary to eye disease or trauma			Marked	Moderate	Mild	None	
2. Fever				> 38.9 °C	< 37.8 °C	Normal	
3. Hypotonia, coma, depression, convulsions				Marked	Mild	Normal	
4. Anterior uveitis, diarrhea, respiratory distress swollen joints, open wounds			Yes			No	
IV. Historical data							
1. Placentitis, vulvar discharge prior to delivery, dystocia, long transport of mare, mare sick, foal induced			Yes			No	
2. Prematurity			< 300 days	300-310	311-330	>330	
		Total Points _____					

Figura 2.2.1.1: Il "Sepsis Scoring System" messo a punto da Brewer e Koterba (Brewer e Koterba, 1988 modificato).

Questo Score presuppone che:

- Se il puledro ha più di 12 ore di vita, il test della torbidità del solfato di Zinco (messo in atto per stimare le IgG sieriche) debba far riferimento ai valori di laboratorio;
- Se il puledro ha meno di 12 ore di vita, venga assegnato un punteggio +2 al ZST se l'anamnesi riporta l'assunzione di colostro di buona qualità; +4 in caso contrario.
- Un punteggio complessivo maggiore o uguale a 12 è indicativo di sepsi nel 94% dei casi; un punteggio minore di 11 esclude la sepsi con un'accuratezza dell'86% (Brewer e Koterba, 1988).

Nello stesso anno è stato modificato il Sepsis Score di Brewer e Koterba, escludendo, per motivi economici e di applicabilità "in campo", la PaO₂ e l'acidosi metabolica.

E' stato quindi stabilito un nuovo cut-off, che non corrisponde più ad un punteggio pari a 12, bensì a 11. Questo score modificato presenta una sensibilità del 93% e una specificità pari all'88% (Brewer et al., 1988).

Nel 2003 Corley e Furr hanno valutato i precedenti Score, confrontandoli statisticamente con la presenza di sepsi. Tali score sono stati applicati ad una popolazione di 168 puledri di età inferiore a 10 giorni, suddivisi in settici (86), non settici (45) e non classificabili (37) in funzione dell'esito dell'emocoltura, dei tamponi batteriologici ed in funzione del responso di esami ante- e/o post-mortem.

Sono stati presi in considerazione i seguenti dati:

- Conta dei Neutrofili (conteggio manuale);
- Conta dei Neutrofili banda (conteggio manuale);
- Morfologia dei neutrofili;
- Fibrinogeno plasmatico (precipitazione a caldo);
- Glicemia (glucometro portatile);
- IgG (CITE test o SNAP test);
- PaO_2 (sangue arterioso prelevato dall'A. Metatarsale dorsale);
- Acidosi Metabolica (pH, CO_2 , eccesso di basi);
- Informazioni anamnestiche (placentite, scolo vulvare, lungo trasporto della fattrice, patologie della fattrice, parto indotto, distocia, prematurità).

Per ciascun puledro è stato quindi, compilato il "Sepsis Score" ed il "Sepsis Score modificato", il quale esclude dal primo i risultati ottenuti tramite emogas (PaO_2 e acidosi metabolica). Un paziente, con un certo grado di confidenza, è definito settico qualora ottenga un punteggio almeno pari a 12 al "Sepsis Score" o almeno pari a 11 al "Sepsis Score modificato". La sensibilità e la specificità sono pari rispettivamente al 93% ed all' 88% nel primo caso ed al 74% ed al 73% nel secondo (Corley e Furr, 2003).

Foal Sepsis Score Sheet

The Ohio State University Veterinary Teaching Hospital

Date: _____

Total Score: _____

Check one:

_____ At Admission?

_____ Day subsequent to admission?

Indicate Day # _____

		Number of points to assign:				
Foal sepsis score:		4	3	2	1	0 this case
I. CBC	record Exact #					
1. Neutrophil count (NOT TOTAL WBC)		<2.0 x 10 ⁹ /l	2.0-4.0 or >12.0	8.0-12.0	Normal	
2. Band neutrophil count		>0.2 x 10 ⁹ /l	0.05-0.20		<0.05	
3. Doehle bodies Toxic, granulation, Or vacuolization In neutrophils	marked	moderate	slight		none	
4. Fibrinogen (mg/dl)			>600	410-600	<400	
II. Other Laboratory Data						
1. Hypoglycemia (mg/dl)			<49	49-79	>79	
2. IgG (mg/dl)	<200	200-400	400-800		>800	
3. Aterial oxygen	<40 Torr	40-50	51-70		>70	
4. Metabolic acidosis			Yes	No		
III. Clinic Examination						
1. Petechiation or Scleral injection No secondary to eye Disease or trauma	Marked	Moderate	Mild	None		
2. Fever (°F)		>38,9°C	<37,8°C	Normal		
3. Hypotonia, coma depression, convulsions		Marked	Mild	Normal		
4. Anterior uveitis, Diarrhea, respiratory distress Swollen joints, open wounds	Yes			No		
IV. Historical data						
1. Placentitis, vulvar Discharge prior to delivery, Dystocia, long transport of mare, Mare sick, foal induced	Yes			No		
2. Prematurity	<300 days	300-310	311-330	>330		

Total Points _____

1. If a foal older than 12 h, compute the score using the IgG value you get back from the lab.
2. If it less than 12 h, give it a +2 for IgG if it has a history of nursing what appeared to be a good colostrum. Give the foal a +4 if it has not nursed or if in doubt.
3. A score of 12 or higher correctly predicts sepsis 93% of the time. A score of 11 or less predicts non-sepsis correctly 88% of the time.

Figura 2.2.1.2: "Foal Sepsis Score Sheet" applicato all' Ohio State University Veterinary Teaching Hospital (<http://vet.osu.edu> modificato)

Da questo studio è emerso che le alterazioni citologiche neutrofiliche, la concentrazione di IgG inferiore a 400 mg/dL e l'ipoglicemia sono i fattori più strettamente correlati con lo sviluppo di sepsi (Corley e Furr, 2003).

2.2.2 SEPSIS SCORE nel CANE

Nella specie canina, le infezioni batteriche sono la causa più comune di sepsi, e, tra queste, *Escherichia coli* è l'agente eziologico isolato più frequentemente (Walker et al., 2000).

Le principali patologie associate allo sviluppo di sepsi nel cane sono la peritonite, la pancreatite, la polmonite, la piometra, la prostatite e le ferite infette (Laforcade et al., 2003).

A causa della notevole variabilità tra le razze canine, l'individuazione di range fisiopatologici universali, cui assegnare degli score, non è di facile attuazione (Laforcade et al., 2003).

In bibliografia non sono riportati sepsis score per la specie canina, mentre sono presenti alcuni SIRS score (Matijatko et al., 2009).

In corso di sepsi è stata però evidenziata una correlazione positiva tra:

- Ipotensione refrattaria alla fluidoterapia, collasso cardiocircolatorio, DIC e prognosi infausta (Lesley e King, 1994).
- Frequenza cardiaca, temperatura, WBC, neutrofili banda e diagnosi di infezione batterica grave (Hauptman, 1997);
- CRP, Antitrombina e prognosi (Laforcade et al., 2008);
- Leptina plasmatica e diagnosi di endotossiemia (Yilmaz et al., 2008);
- Decremento della CRP e prognosi (Gebhardt et al., 2009);
- NT-pCNP (porzione amino terminale del peptide natriuretico di tipo C) e diagnosi di sepsi (DeClue et al., 2011);
- PvO₂ e prognosi (Patara et al., 2012).

2.2.3 SEPSIS SCORE nel GATTO

La sepsi felina è frequentemente associata alla presenza di peritonite settica, piotorace ed ascessi epatici. Le manifestazioni cliniche sono simili a quelle che troviamo in corso di sepsi canina anche se la bradicardia, l'ipotermia e ed il dolore addominale hanno una prevalenza maggiore nel gatto rispetto al cane (DeClue, 2010).

Così come per la specie canina, anche per il gatto, in bibliografia non è riportato alcun Sepsis Score. Nello studio di DeClue e collaboratori (2011) è stata però notata una correlazione tra la sepsi e la concentrazione di neutrofili banda, l'eosinopenia, l'iponatriemia, l'ipocloremia, l'ipoalbuminemia, l'ipocalcemia e l'iperbilirubinemia. E' stato dunque osservato che l'attività plasmatica di TNF è maggiore nei gatti settici rispetto a quelli che presentano SIRS non associata ad infezione. Inoltre, l'attività plasmatica di IL-6 nei gatti SIRS positivi è superiore a quella registrata nei gatti sani. Gli autori suggerisco quindi che l'attività dell'IL-1 β e dell'IL-6 e la concentrazione plasmatica dei cloruri possono essere biomarker prognostici utili in corso di sepsi felina (DeClue et al., 2011).

2.2.4 SEPSIS SCORE nel BOVINO

La batteriemia è una patologia debilitante frequente nei vitelli neonati (Vaala et al., 2009).

Alcuni autori hanno sviluppato un **Clinical Sepsis Score**, con lo scopo di aiutare i medici buiatri nella diagnosi precoce di batteriemia in vitelli neonati. Il Clinical Sepsis Score raccoglie informazioni in merito allo stato d'idratazione, all'aspetto delle feci, allo stato generale, ai vasi della sclera ed all'eventuale presenza di patologie ombelicali. Ad ognuno di questi parametri è attribuito uno score variabile da 0 a 3, dove il punteggio "3" corrisponde ad alterazioni cliniche di maggiore gravità. La somma degli score è stata poi tradotta in probabilità di sviluppo di batteriemia, mediante l'ausilio di un grafico (Fecteau et al., 1997).

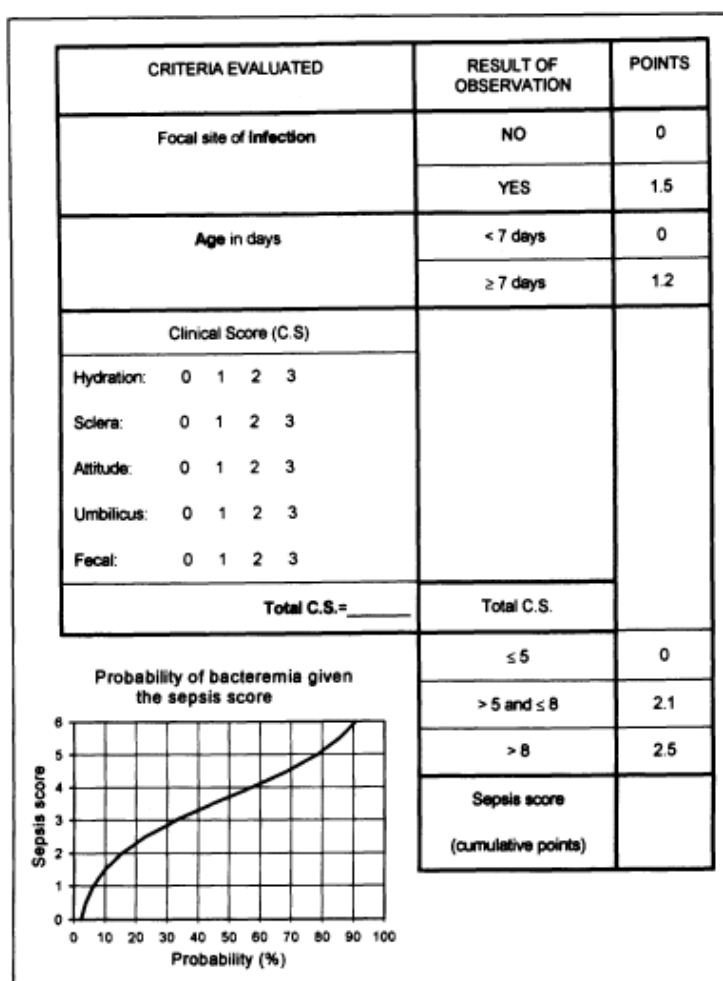


Figura 2.2.4.1: Clinical Sepsis Score (Fecteau et al., 1997 modificato)

Da questo studio è emerso che la batteriemia è associata maggiormente al Clinical Sepsis Score, all'età ed alla presenza di siti di infezione rispetto alla frequenza cardiaca, respiratoria e temperatura rettale) (Fecteau et al., 1997).

Wenz e colleghi (2001) hanno sviluppato il **Systemic Severity Score (SSS)** per predire la batteriemia e l'out-come in una popolazione di vacche da latte con mastite acuta da coliformi. Il SSS prende in esame la temperatura rettale, lo stato di idratazione, l'attività ruminale e lo stato del sensorio. A ciascuno di questi parametri è stato attribuito uno score variabile da 0 a 3. Uno score complessivo compreso tra 0 e 2 è indice di mastite di grado leggero, tra 3 e 5 di grado moderato e tra 6 e 9 di grado severo.

VARIABILI	CRITERI	SCORE
Temperatura rettale (°C)	37,8-39,2	0
	39,3-39,8	1
	<37,8 o >39,8	2
Stato di Idratazione (grado di enoftalmo)	Nessuno	0
	Lieve	1
	Moderato	2
	Marcato	3
Contrazioni ruminali (contraz/min)	≥ 2	0
	1	1
	0	2
Depressione del sensorio	Nessuno	0
	Lieve	1
	Moderato	2

Figura 2.2.4.2: Il Systemic Severity Score (Wenz et al., 2001 modificato)

Il SSS ha mostrato una maggiore accuratezza nella valutazione della batteriemia e dell'out-come in corso di mastite acuta da coliformi rispetto ad altri score che valutano segni locali di infiammazione (LSS, LS1, LS2) (Wenz et al., 2006).

CAPITOLO 3

II SIRS SCORE

La SIRS è una condizione clinica che rappresenta l'esito finale dell'attivazione di una rete complessa di mediatori endogeni, le citochine infiammatorie.

La risposta infiammatoria sistemica non è associata necessariamente ad infezione o sepsi, ma è osservata anche in caso di traumi, pancreatiti o ustioni (Bone et al., 1992; Sakamoto et al., 2010).

L'American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference, nel 1991, ha stabilito delle linee guida utili per discriminare i pazienti che presentano tale risposta sistemica. Le variabili da tenere in considerazione in questa valutazione sono quattro e sono: la temperatura corporea, la frequenza cardiaca, la frequenza respiratoria (o la PaCO_2) e la conta leucocitaria ematica (WBC) (o la concentrazione ematica di neutrofili banda). Per ciascuna variabile sono stati definiti valori cut-off di riferimento. Un paziente è dunque definito SIRS positivo se presenta almeno due parametri alterati su quattro (ACCP/SCCM Consensus Conference, 1992; Corley et al, 2005).

E' opportuno sottolineare che il SIRS score conferma o esclude la presenza di una risposta infiammatoria sistemica, senza attribuire alcun valore prognostico al punteggio ottenuto. E' uno score di facile impiego che comporta un esiguo dispendio di tempo e di denaro; di contro, alcuni autori hanno messo in evidenza la sua elevata sensibilità e la sua ridotta specificità, che si traduce, di fatto, in un elevato numero di falsi positivi (Opal, 1998; Alberti et al., 2003).

3.1 SIRS SCORE in MEDICINA UMANA

Prima che con l'ACCP/SCCM Consensus Conference fossero definite le linee guida in merito alla risposta infiammatoria sistemica, sono stati sviluppati molteplici score che prendono in esame parametri differenti. La gravità del processo infiammatorio è stata valutata mediante l'impiego di tre score: il Multiple Organ Dysfunction (MOD) score, il Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score ed il Logistic Organ Dysfunction (LOD) score.

Il **MOD** score è stato sviluppato da Marshall e colleghi nel 1995. Esso valuta la funzionalità di sei organi ed apparati, attribuendo a ciascuno di essi un punteggio variabile da 0 (normale funzionalità) a 4 (grado di disfunzione maggiore). Gli apparati presi in considerazione sono quello respiratorio, epatico, renale, cardiovascolare, neurologico e coagulativo. Nello studio di Cook e colleghi (2001) un MOD score compreso tra 9 e 12 è stato associato ad un tasso di mortalità del 25%, uno score compreso tra 13 e 16 ad un tasso di mortalità del 50%, quello tra 17 e 20 ad una probabilità del 75% ed un punteggio superiore a 20 è stato correlato ad un tasso di mortalità pari al 100%.

Il **SOFA** score è stato sviluppato nel 1994 durante la Consensus Conference organizzata dall'European Society of Intensive Care and Emergency Medicine, con lo scopo di classificare il grado di disfunzione d'organo di pazienti critici ammessi all'unità di terapia intensiva. Esso valuta i medesimi apparati del MOD score e, in funzione della funzionalità, attribuisce a ciascuno di esso uno score variabile tra 0 a 4 (Moemen, 2012).

Vincent e collaboratori (2000) hanno poi rilevato che i pazienti settici, presenti nel loro studio, presentavano un SOFA score statisticamente superiore a quello dei non settici. Antonelli e colleghi in uno studio del 1999 hanno evidenziato che i pazienti che non sopravvivevano mostravano un SOFA score statisticamente più alto rispetto a quello dei pazienti dimessi.

Il **LOD** score è stato messo a punto nel 1996 da Le Gall e colleghi all'interno dell'Unità di Terapia Intensiva. Come i precedenti, esso valuta la funzionalità d'organo, impiegando però dodici variabili, con un punteggio complessivo pari a 22. Il punteggio è pari a zero se non è presente alcuna disfunzione d'organo; esso è uguale a cinque se la funzionalità risulta completamente compromessa.

Lo score totale, così ottenuto, è stato poi statisticamente associato all'out-come del paziente (Le Gall et al., 1996).

Inoltre, la probabilità di sopravvivenza in corso di risposta infiammatoria sistemica è stata stimata mediante l'utilizzo di numerosi scoring system.

Tra questi troviamo l'APACHE score, il TISS e il SAPS (Moemen, 2012).

L'Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (**APACHE**) prognostic scoring system è stato sviluppato nel 1981 da Knaus e collaboratori. Esso prende in considerazione trentaquattro variabili, cui attribuisce uno score compreso tra zero e quattro. Il punteggio complessivo è stato poi correlato con il tasso di mortalità (Knaus et al., 1981).

Nel 1985 Knaus e colleghi hanno proposto una versione semplificata di tale score, l'APACHE II. Esso differisce dal precedente per il numero di variabili prese in considerazione, non più 34 ma 12, e per il punteggio attribuito a ciascuna di esse. A fronte di una maggiore semplicità, quest'ultimo score ha presentato valori predittivi equiparabili al precedente (Knaus et al., 1985).

Nel 1991, infine, *Knaus* e colleghi hanno messo a punto un'ultima variante dell'APACHE prognostic system, l'APACHE III. Questo score si differenzia dalle precedenti versioni per i parametri esaminati, le tempistiche d'analisi e per la sua correlazione con criteri diagnostici specifici. I parametri analizzati sono: temperatura corporea, frequenza cardiaca, pressione ematica media, frequenza respiratoria, WBC, ematocrito, natriemia, albuminemia, stato acido-base, bilirubinemia, volume urinario, creatinemia, PaO₂, età, stato del sensorio e la presenza di patologie croniche. L'APACHE scoring system è l'unico modello validato che fornisce informazioni prognostiche in merito alla probabilità di sopravvivenza ed al periodo di degenza (Moemen, 2012).

Il Therapeutic Intervention Scoring System (**TISS**) è stato introdotto nel 1974 da Cullen e colleghi. Esso analizza 76 parametri ed assegna ad essi uno score compreso tra 1 e 4, in funzione dell'intensità dell'intervento subito. In base al punteggio complessivo, il paziente è inserito in una delle quattro categorie di rischio (Cullen et al., 1974).

Il TISS, compilato nel momento del ricovero, non fornisce informazioni prognostiche, ma la sua variazione nel tempo è utile per predire l'out-come del paziente (Moemen, 2012).

Nel 1984 Le Gall e colleghi hanno pubblicato il Simplified Acute Physiology Score (SAPS), come versione semplificata dell'APS e dell'APACHE score. Questo sistema prende in esame i 13 parametri dell'APS più facilmente diagnosticabili ed assegna a ciascuno di essi uno score compreso tra 0 e 4. Gli autori affermano che il SAPS possiede valori predittivi inferiori all'APS e all'APACHE scoring system, ma la sua maggiore semplicità ne rende più agevole l'impiego nella pratica routinaria (Le Gall et al., 1984). Nel 1993 Le Gall e collaboratori autori hanno rielaborato il SAPS, dando origine al SAPS II. Questo nuovo score prende in esame 17 variabili, 12 clinico-fisiologiche, l'età, il tipo di ammissione e 3 riguardanti l'anamnesi patologica remota. Nel loro studio, il SAPS II ha mostrato un'accuratezza maggiore dell'APACHE III nel predire la morte in gruppi di pazienti, anche in assenza di una specifica diagnosi eziologica.

Nel 1991 durante la Consensus Conference ACCP/SCCM, vennero riviste le precedenti definizioni di Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS). La **SIRS** fu quindi indicata come la risposta ad insulti di vario grado e natura, che si manifesta con la presenza di due o più delle seguenti condizioni:

- Temperatura corporea $>38^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca >90 bpm;
- Frequenza respiratoria >20 arm (o $\text{PaCO}_2 <32$ mmHg);
- WBC >12 K/ μL o <4 K/ μL o presenza di più del 10% di neutrofili banda.

Ad ognuno di questi parametri è stato assegnato un punteggio pari ad 1. Oltre a processi infettivi, un SIRS score ≥ 2 è stato correlato con un out-come sfavorevole in pazienti traumatizzati (Malone et al., 2001; Sakamoto et al, 2010), ustionati (Wang et al., 1999), in quelli che presentavano pancreatite (Khanna et al., 2013) o neoplasie ematologiche (Mato et al. 2009) ed in quelli che erano stati sottoposti precedentemente a chirurgie invasive (Talmor et al., 1999).

Nello studio di *NeSmith* e collaboratori (2009) la presenza di un SIRS score pari a 4 al momento dell'ammissione, è stata messa in relazione con l periodo di degenza.

3.2 SIRS SCORE in MEDICINA VETERINARIA

3.2.1 SIRS SCORE nel CAVALLO

La risposta infiammatoria sistemica è un'evenienza molto comune nella clinica ippiatrica. Le manifestazioni cliniche ad essa associate sono rappresentate da tachicardia, tachipnea, mucose cianotiche con petecchie emorragiche o con anello tossico, tempo di riempimento capillare alterato, iniezioni della sclera ed ipertermia. Alcuni pazienti possono inoltre presentare depressione del sensorio, anoressia o sintomi di dolore addominale. Se l'ipovolemia o la sepsi di grado severo hanno compromesso la funzionalità dell'apparato cardiocircolatorio, il polso periferico può risultare debole o assente e le estremità corporee possono apparire fredde. E' importante sottolineare che i primi sintomi clinici possono non essere immediatamente manifesti e che, quindi, risulta di estrema importanza il disporre di ausili diagnostici precoci (Roy, 2004).

Corley e colleghi (2005) rifacendosi alle linee guida internazionali stabilite dall'ACCP/SCCM Consensus Conference in materia di risposta infiammatoria sistemica, hanno definito per la specie equina un **SIRS scoring system**. Secondo questo modello, un cavallo è definito SIRS positivo se incontra due o più dei seguenti criteri:

- Temperatura rettale $>39,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $<37,2\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca $>120\text{ bpm}$;
- Frequenza respiratoria $>30\text{ arm}$;
- WBC $>12,5\text{ K}/\mu\text{L}$ o $<4,0\text{ K}/\mu\text{L}$ o presenza di più del 10% di neutrofili banda;
- Evidenza di sepsi, ischemia cerebrale, ipossia o trauma.

Per comprendere meglio questi criteri, è opportuno considerare che:

- * *l'evidenza di sepsi* è rappresentata dalla positività dell'emocoltura e/o dalla diagnosi microbiologica di infezione localizzata;
- * *l'ischemia cerebrale e l'ipossia* sono l'esito finale di molte patologie, tra cui la sindrome asfittica perinatale;
- * la presenza di *trauma* si riscontra mediante l'evidenza clinica o radiografica di fratture costali o di trauma cerebrale.

Nello studio di Corley et al. (2005) un SIRS score ≥ 2 è stato statisticamente associato ad una prognosi infausta.

Infine, Hashimoto-Hill e colleghi (2011) hanno sviluppato un **SIRS score**, utile come criterio diagnostico in corso di colite acuta in cavalli adulti.

In questo studio, la diagnosi di risposta infiammatoria sistemica si è basata sulla presenza di due o più dei seguenti criteri:

- ✦ Temperatura rettale $>38,6$ °C o $<36,7$ °C;
- ✦ Frequenza cardiaca >50 bpm;
- ✦ Frequenza respiratoria >25 rpm;
- ✦ WBC $>14,5$ K/ μ L o $< 5,0$ K/ μ L o presenza di più del 10% di neutrofili banda.

3.2.2 SIRS SCORE nel CANE

Per quanto concerne la medicina umana, i parametri diagnostici sono stati stabiliti dall'ACCP/SCCM Consensus Conference e, in tempi successivi, il concetto di SIRS è stato applicato in pazienti ammessi all'unità di terapia intensiva (ACCP/SCCM Consensus Conference, 1992)

In medicina veterinaria non sono state ancora elaborate linee guida ufficiali in materia di risposta infiammatoria sistemica ed alcuni autori hanno proposto differenti criteri diagnostici di SIRS canina (Matijatko et al., 2009).

In ogni scoring system, sono state esaminate quattro variabili, ed a ciascuna di esse è stato associato un punteggio pari ad 1. Uno score totale pari o superiore a 2 è indicativo di sindrome da risposta infiammatoria sistemica.

Nel 1994 Purvis e Kirby hanno sviluppato il seguente SIRS score:

- Temperatura rettale $>39^{\circ}\text{C}$ o $<37^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca >160 bpm;
- Frequenza respiratoria >20 arm;
- WBC $>12,0$ K/ μL o $<4,0$ K/ μL o presenza di più del 10% di neutrofili banda.

Hardie (1995) ha impiegato il SIRS score di Purvis e Kirby, modificandolo nel seguente modo:

- Temperatura rettale $>40^{\circ}\text{C}$ o $<38^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca >120 bpm;
- Frequenza respiratoria >20 arm;
- WBC $>18,0$ K/ μL o $<5,0$ K/ μL o presenza di più del 5% di neutrofili banda.

Hauptman e collaboratori (1997) hanno studiato la specificità e la sensibilità degli score systems studiati da Purvis e Kirby (1994) e da Hauptman et al. (1997).

In particolare, la sensibilità e la specificità del primo lavoro sono state pari a 77% e 74%, rispettivamente, mentre per il secondo gli autori hanno ottenuto una sensibilità dell'83% ed una specificità del 77%. Nel 1997 Hauptman e colleghi hanno proposto il seguente SIRS score:

- Temperatura rettale $>39,2^{\circ}\text{C}$ o $<38,1^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca >120 bpm;
- Frequenza respiratoria >20 arm;
- WBC $>16,0$ K/ μL o $<6,0$ K/ μL o presenza di più del 3% di neutrofili banda.

Questo score ha mostrato una sensibilità pari al 97% ed una specificità del 64%. Brady e Otto in uno studio del 2001, hanno poi stabilito che un cane è definito SIRS positivo se incontra due o più dei seguenti criteri:

- Temperatura rettale $>39,2^{\circ}\text{C}$ o $<37,8^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca >140 bpm;
- Frequenza respiratoria >30 arm;
- WBC $>19,0$ K/ μL o $<6,0$ K/ μL .

L'applicazione di tale score nello studio di Bentley e colleghi (2007), non ha permesso di ottenere differenze statisticamente significative tra i cani deceduti e quelli sopravvissuti. Un altro modello di SIRS score che troviamo in bibliografia, è quello proposto nel 2002 da Okano e colleghi. Esso possiede i seguenti valori cut-off:

- Temperatura rettale $>39,7^{\circ}\text{C}$ o $<37,8^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca >160 bpm;
- Frequenza respiratoria >40 arm;
- WBC $>12,0$ K/ μL o $<4,0$ K/ μL o presenza di più del 10% di neutrofili banda.

Infine nel 2003 de Laforcade e collaboratori hanno sviluppato una nuova versione del SIRS score applicandola ad una popolazione composta da 48 cani. Questa versione riporta:

- Temperatura rettale $>39,4^{\circ}\text{C}$ o $<37,8^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca >140 bpm;
- Frequenza respiratoria >20 arm;
- WBC $>16,0$ K/ μL o $<6,0$ K/ μL o presenza di più del 3% di neutrofili banda.

	T ($^{\circ}\text{C}$)	FC (bpm)	FR (arm)	WBC (K/μL)	NEU banda (%)
<i>Purvis e Kirby (1994)</i>	$>39,0$ o $<37,0$	>160	>20	$>12,0$ o $<4,0$	>10
<i>Hardie (1995)</i>	$>40,0$ o $<38,0$	>120	>20	$>18,0$ o $<5,0$	>5
<i>Hauptman et al. (1997)</i>	$>39,2$ o $<38,1$	>120	>20	$>16,0$ o $<6,0$	>3
<i>Brady e Otto (2001)</i>	$>39,2$ o $<37,8$	>140	>30	$>19,0$ o $<6,0$	-
<i>Okano et al. (2002)</i>	$>39,7$ o $<37,8$	>160	>40	$>12,0$ o $<4,0$	>10
<i>de Laforcade et al. (2003)</i>	$>39,4$ o $<37,8$	>140	>20	$>16,0$ o $<6,0$	>3

Tabella 3.2.2.1: SIRS score nella specie canina

La molteplicità di SIRS score presenti in bibliografia suggerisce la necessità di introdurre linee guida ufficiali, atte alla valutazione della risposta infiammatoria sistemica nella specie canina.

3.2.3 SIRS SCORE nel GATTO

Nella specie felina la risposta infiammatoria sistemica è sovente di natura infettiva, e risulta frequentemente associata a piotorace, peritonite settica, gastro-enterite, polmonite, endocardite, pielonefrite, osteomielite, piometra e ferite da morso (Brady et al., 2000).

Alcuni autori hanno dunque stabilito dei criteri utili per discriminare i gatti SIRS positivi da quelli negativi (Brady et al., 2000; DeClue et al., 2011):

- Temperatura rettale $>39,7^{\circ}\text{C}$ o $<37,8^{\circ}\text{C}$;
- Frequenza cardiaca <140 bpm o >225 bpm;
- Frequenza respiratoria >40 arm;
- WBC $>19,5$ K/ μL o $<5,0$ K/ μL o presenza di più del 5% di neutrofili banda

Nello studio condotto da DeClue e colleghi (2011) non è emersa una differenza significativa tra la mortalità dei gatti che presentavano sepsi e quelli con SIRS di natura non infettiva. Lo score finale, inoltre, non ha fornito alcuna garanzia riguardo la previsione dell'out-come del paziente.

CAPITOLO 4

SIRS: LATTATEMIA e GLICEMIA

4.1 La LATTATEMIA in corso di SIRS

La produzione di energia cellulare, mediante la via glicolitica, esita nella liberazione di piruvato. Nel muscolo scheletrico, intestino, encefalo, cute, eritrociti, leucociti e piastrine, in condizioni di ipossia cellulare il piruvato è ridotto a lattato con produzione di una molecola di ATP. Il lattato raggiunge quindi il torrente circolatorio e, in condizioni di aerobiosi, può essere riconvertito in piruvato, oppure può essere stoccato o eliminato all'esterno. Il lattato è metabolizzato principalmente a livello epatico ed escreto mediante clearance renale (Corley et al. 2005; Henderson, 2013).

L'impiego della lattatemia come marker diagnostico e prognostico in corso di SIRS risulta vantaggiosa in quanto può essere determinata anche in condizioni di campo mediante analizzatori portatili, a partire da campioni ematici arteriosi o venosi. Cause specifiche di iperlattatemia sono da ricercarsi in scompensi cardiogeni, shock settici o ipovolemici, ipossia, anemia ed in corso di crisi convulsive. L'iperlattatemia si riscontra dunque in corso di patologie neoplastiche, diabete mellito, sepsi, epatopatie, insufficienza renale ed enteropatie. Nella specie equina, la misurazione della concentrazione ematica del lattato è utile in corso di colica per svelare la presenza di lesioni ischemiche o come indice prognostico nel post-operatorio. La lattatemia è inoltre utile come indicatore di ipossia e/o disturbi di circolo associati ad anormalità del peri-parto come, ad esempio, in caso di distocia, prematurità, dismaturità, encefalopatia neonatale, sepsi, SIRS o enteriti (Henderson, 2013).

In medicina umana la correlazione tra l'iperlattatemia e la prognosi infausta è stata confermata da diversi studi (De Backer, 2003; Husain et al., 2003; Nguyen et al., 2004; Green et al., 2012; Berger et al., 2013).

Nello studio di Scott e colleghi (2012), condotto su pazienti pediatriche, una lattatemia superiore a 4 mmol/L è stata statisticamente associata a disfunzione d'organo e tale lattatemia è stata correlata ad una prognosi infausta nello studio di Grzybowski (1996).

Molti studi hanno evidenziato una correlazione statisticamente significativa tra la concentrazione del lattato ematico e l'out-come in puledri neonati. Corley e colleghi (2005) hanno osservato che una lattatemia superiore a 2,5 mmol/L al momento dell'ammissione in clinica, è statisticamente associata ad una scarsa probabilità di sopravvivenza, ad un calo della pressione arteriosa media ed alla presenza di batteriemia. E' stata ottenuta la medesima correlazione tra l'iperlattatemia a 18-36 ore dall'ammissione (lattato >2,5 mmol/L), l'out-come sfavorevole e la positività al SIRS score (Corley et al., 2005).

Tali risultati sono stati confermati anche dagli studi di Henderson e colleghi (2013), Wotman e colleghi (2009) e, recentemente, da Borchers et al. (2012).

Dallo studio di Hashimoto-Hill e collaboratori (2011), eseguito su una popolazione composta da 101 cavalli che presentavano colite, non è emersa alcuna correlazione tra la lattatemia al momento dell'ammissione e la probabilità di sopravvivenza. E' stato però notata un'associazione statisticamente significativa tra prognosi fausta e:

- Lattatemia $\leq 2,3$ mmol/L (a 4-8 ore dall'ammissione);
- Lattatemia $\leq 1,5$ mmol/L (a 24 ore dall'ammissione);
- Riduzione della lattatemia di una percentuale pari o superiore al 30% tra 0 e 4-8 ore;
- Riduzione della lattatemia di una percentuale pari o superiore al 50% tra 0 e 24 ore.

Gli autori sostengono, dunque, che, in presenza di una risposta infiammatoria sistemica, la concentrazione plasmatica dei lattati risulta incrementata in quanto si verificano disfunzione endoteliale, attivazione della cascata coagulativa, ipotensione ed ipossia tissutale. Tutti questi eventi si traducono, di fatto, in un'alterazione del microcircolo con passaggio dal sistema aerobico glucidico a quello anaerobico lattacido (Hashimoto-Hill et al., 2011).

Per quanto concerne la specie canina, dallo studio di Patara e colleghi (2012) è emerso che una lattatemia compresa tra 2,5 e 4,9 mmol/L è associata ad ipoperfusione di grado lieve; una compresa tra 5,0 e 7,0 mmol/L ad un'ipoperfusione di grado moderato, mentre il riscontro di una concentrazione ematica di lattato superiore a 7 mmol/L è spesso indicativo di una ipoperfusione severa.

Nell'indagine di Hagman e collaboratori (2009), condotta su una popolazione composta da 31 cagne presentanti piometra, non è stata osservata alcuna correlazione statistica tra la lattatemia pre-operatoria, il SIRS score e la durata della degenza ospedaliera. Inoltre, la concentrazione del lattato ematico non è risultata indicativa di peritonite settica. Nello studio condotto da Holbeck e Grände (2002) su 22 gatti, è stata osservata un'associazione statisticamente significativa tra la presenza di endotossitemia e l'iperlattatemia.

4.2 La GLICEMIA in corso di SIRS (Berk et al., 1969)

La glicemia è la risultante tra la quota di glucosio immessa in circolo mediante il metabolismo epatico e quella rimossa per captazione tissutale. Le endotossine batteriche sono potenti stimolatori adrenergici, che inducono glicogenolisi epatica e, al contempo, inibiscono l'utilizzo del glucosio da parte dei tessuti. Entrambi questi effetti comportano un aumento della glicemia. Inoltre, le endotossine determinano il rilascio di glucocorticoidi endogeni, GH e tiroxina, con conseguente incremento della gluconeogenesi e calo nell'utilizzo del glucosio. Tuttavia l'iperglicemia iniziale è controbilanciata dal fatto che l'anoressia associata alla sepsi tende ad esaurire le riserve epatiche di glicogeno e le proteine corporee.

L'endotossiemia comporta quindi vasocostrizione periferica con ipossia cellulare progressiva. Tale evenienza induce il passaggio ad un metabolismo cellulare di tipo anaerobio, con conseguente produzione di una quota inferiore di energia là dove le richieste sarebbero addirittura superiori. Il tutto esita in uno stato di acidosi metabolica con riduzione della sensibilità alle catecolamine, deplezione delle riserve di glicogeno ed abbassamento della glicemia.

Nella specie canina, a differenza delle altre, in corso di shock endotossico, si ha un'eccessiva stimolazione dei recettori adrenergici. Questo esita nello sviluppo di shunt artero-venosi a livello splancnico con trasudazione e calo della pressione arteriosa, ipoperfusione ed ipossia tissutale. Il calo della perfusione epatica danneggia gli epatociti e, conseguentemente, si verifica una riduzione nella liberazione di glucosio con abbassamento della glicemia (Berk et al., 1969).

In medicina umana, molti studi hanno evidenziato l'associazione tra SIRS e condizioni di iper ed ipo-glicemia. Entrambe le evenienze sono state poi correlate statisticamente a prognosi sfavorevoli (Bochicchio et al., 2005; Faustino e Apkon, 2005; Mendoza et al., 2005; Sung et al., 2005; Wintergest et al., 2006).

Nello studio di Green e colleghi (2012), condotto su pazienti settici non diabetici, l'indice di mortalità è stato statisticamente associato all'iperglicemia unicamente nei casi in cui coesisteva una condizione di iperlattatemia.

Per quanto riguarda la specie equina, in cavalli adulti affetti da dolore addominale acuto, l'iperglicemia, a differenza dell'ipoglicemia, è di frequente riscontro ed è associata a mancata sopravvivenza (Hollis et al., 2007).

L'ipoglicemia è invece di comune rilievo in puledri neonati con sintomatologia settica.

Questo è dovuto al fatto che i puledri alla nascita non possiedono elevate riserve di grassi e di glicogeno. Inoltre per problematiche legate al puledro stesso, al parto o alla fattrice possono subentrare impedimenti all'assunzione del colostro. Tutti questi aspetti, associati ad un incremento del metabolismo, predispongono il puledro all'ipoglicemia (Koterba et al., 1984; Corley e Furr, 2003; Hollis et al., 2008).

Nello studio di Hollis e colleghi (2008) una glicemia neonatale inferiore a 50 mg/dL è stata statisticamente associata al riscontro di batteriemia, mentre una compresa tra 50 mg/dL e 76 mg/dL a sepsi. La presenza di una concentrazione ematica di glucosio inferiore a 76 mg/dL o superiore a 180 mg/dL è stata inoltre correlata con una prognosi di tipo infausto. Per quanto riguarda la specie canina, in bibliografia sono riportati studi con esiti discordanti.

Dall'indagine di Postel e Schloerb (1977), infatti, è emerso che l'induzione sperimentale di endotossiemia in cani sani, evoca, da parte dell'organismo, in primo luogo una risposta iperglicemizzante, a cui segue un repentino abbassamento della glicemia.

Al contrario, nello studio di Hauptman e collaboratori (1997) e in quello di de Laforcade e colleghi (2003) non sono state evidenziate correlazioni tra lo sviluppo di sepsi ed alterazioni glicemiche. Nella specie felina, alcuni studi sperimentali testimoniano che in corso di sepsi si verifica uno squilibrio tra la liberazione di insulina e quella di altri ormoni regolatori, che esita frequentemente in una sindrome di tipo iperglicemizzante (DeClue et al., 2009).

Dagli studi presenti in bibliografia si evidenzia, quindi, una qualche correlazione tra la presenza di una risposta infiammatoria sistemica e le alterazioni di lattatemia e glicemia. Tali rilievi necessitano però di indagini ulteriori.

CAPITOLO 5

PARTE SPERIMENTALE

La SIRS è una condizione che si riscontra frequentemente nell'unità di neonatologia equina. La sopravvivenza del puledro è correlata a molti fattori, tra questi la precocità della diagnosi e l'impostazione di un adeguato piano terapeutico rivestono un ruolo importante. A tal fine, sono stati sviluppati il Sepsis ed il SIRS Score.

Il Sepsis Score, prendendo in esame numerosi parametri, risulta maggiormente dispendioso sia in termini economici che di tempo. Inoltre, la diagnostica di laboratorio di cui necessita, può non essere accessibile in condizioni di campo. Questi aspetti sono alla base del crescente impiego del SIRS Score nell'ambito della clinica equina.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di verificare la correlazione tra il Sepsis ed il SIRS Score in una popolazione di puledri patologici e di confrontare i nostri risultati con i dati riportati in bibliografia.

Un ulteriore obiettivo è stato quello di evidenziare l'esistenza di un'eventuale associazione tra il SIRS Score e parametri di laboratorio normalmente impiegati in terapia intensiva neonatale, quali la lattatemia, la glicemia, la fibrinogenemia, la neutrofilia e l'emocoltura, al fine di valutare l'impiego di quest'ultimi in corso di risposta infiammatoria sistemica.

5.1 MATERIALI e METODI

Lo studio sperimentale è stato condotto tra il 2010 e il 2014 su una popolazione composta da 46 puledri affetti da vari tipi di malattie.

I dati sono stati raccolti presso tre Ospedali Didattici diversi:

1. Ospedale Didattico Veterinario “Mario Modenato”, Dipartimento Scienze Veterinarie, Pisa, Italia (28/46 puledri);
2. Ospedale Clinico Veterinario, Universitat Autònoma de Barcelona, Spagna (4/46 puledri);
3. Veterinary Teaching Hospital, Cornell University, USA (14/46 puledri).

5.1.1 DATI CLINICI

Al momento del ricovero, per ciascun puledro, è stata compilata una cartella clinica riportante i dati segnaletici ed anamnestici.

5.1.1.1 Segnalamento e Motivo della visita

I puledri presi in esame avevano un'età compresa tra 1 e 90 giorni ed appartenevano a razze differenti, con prevalenza di equini di razza Trottatore, PSI e Sella Italiano.

5.1.1.2 Anamnesi remota e recente

Sono state annotate eventuali patologie gestazionali della fattrice (colica, placentite, scolo vulvare e/o lattazione prematura ecc.), se essa aveva subito un lungo trasporto nel periodo antecedente il parto e se quest'ultimo era stato o meno fisiologico. Ulteriori informazioni richieste al proprietario sono state quelle inerenti l'immediato *post-partum* con particolare riferimento al rispetto dei tempi semeiologici da parte del puledro, all'assunzione del colostro ed all'esame ispettivo macroscopico della placenta.

5.1.1.3 Esame clinico

Al momento del ricovero è stato eseguito un Esame Obiettivo Generale atto a valutare:

- Lo sviluppo scheletrico e la costituzione;
- Lo stato di nutrizione e la tonicità muscolare;
- Lo stato del sensorio;
- La presenza di atteggiamenti e segni particolari;
- La cute e gli annessi cutanei;
- Le mucose apparenti;
- La temperatura, il polso (frequenza) ed il respiro (frequenza);
- Le grandi funzioni organiche.

E' stato condotto l'Esame Obiettivo Particolare (EOP) dell'apparato respiratorio, cardio-circolatorio, digerente e uro-genitale. Per quanto concerne l'apparato respiratorio, è stata valutata la presenza di scolo nasale o tosse. E' stato valutato il tipo, la frequenza, l'ampiezza, la celerità ed il ritmo del respiro. Mediante l'auscultazione polmonare è stato inoltre possibile riconoscere eventuali rumori respiratori patologici.

Durante l'EOP dell'apparato cardio-circolatorio è stata esaminata la frequenza, il ritmo, l'ampiezza, la celerità e la durezza del polso a livello dell'Arteria Metatarsale Dorsale.

Mediante l'auscultazione cardiaca si sono analizzati i toni cardiaci, evidenziando eventuali soffi o alterazioni del ritmo cardiaco.

L'osservazione delle mucose e del tempo di riempimento capillare ha permesso di valutare la perfusione periferica ed il grado di idratazione.

E' stata quindi ispezionata la cavità orale e l'ano per escludere possibili anomalie congenite. L'osservazione di distensione e dolore addominale e di alterazioni nei borborigmi intestinali e/o nella defecazione ci hanno indirizzato verso patologie gastro-enteriche, tra le quali quelle di più frequente riscontro sono state la ritenzione di meconio e l'ernia.

Infine per quanto concerne l'EOP dell'apparato uro-genitale è stata valutata la produzione urinaria ed è stata esaminata l'appendice ombelicale per escludere l'eventuale presenza di uraco pervio o di ernie ombelicali.

La prematurità e la dismaturità sono considerati fattori di rischio per lo sviluppo di sepsi neonatale e, per questo motivo, è stata posta una particolare attenzione nell'individuazione dei loro sintomi e segni caratteristici (Mc Kenzie e Furr, 2001).

5.1.2 DIAGNOSTICA DI LABORATORIO

Al momento dell'ammissione in clinica, tutti i soggetti patologici sono stati sottoposti ad un prelievo di 7 ml di sangue venoso dalla V. Giugulare; 400 µl di sangue intero sono stati utilizzati per la valutazione delle IgG plasmatiche mediante metodo ELISA semiquantitativo (SNAP foal IgG test kit, IDEXX, USA).

Il restante campione è stato diviso in 3 aliquote:

- i. 1 ml è stato conservato in una provetta con anticoagulante K₃ EDTA e, entro 5 minuti dal prelievo, è stato utilizzato per l'esecuzione di un esame emocromocitometrico completo mediante contaglobuli automatico (Procyte Dx, IDEXX, USA). Il preparato citologico è stato essiccato all'aria, colorato con coloratrice automatica ed analizzato con microscopio ottico a 40X e 100X. L'esame morfologico dello striscio ematico ha permesso di evidenziare anomalie a carico degli eritrociti (policromasia, poichilocitosi, emolisi ecc), di valutare i neutrofili banda e quelli che mostravano segni citoplasmatici di tossicità e di individuare eventuali artefatti;
- ii. 2,5 ml sono stati conservati in sodio citrato, ed il plasma è stato utilizzato per il dosaggio del fibrinogeno plasmatico mediante coagulometro automatico (SEAC Clot 2s, Italia);
- iii. 2,5 ml sono stati posti in una provetta con litio eparina ed il plasma utilizzato immediatamente per dosare glicemia e lattatemia (RADIOMETER ABL 700 Blood Gas Analyzer, Denmark). La quota di plasma non impiegata è stata conservata a -18 °C ed utilizzata per il dosaggio della procalcitonina (PCT) mediante kit ELISA specifico per la specie equina (MyBioSource.com, USA). I campioni destinati alla valutazione della PCT sono stati analizzati in un'unica sessione di lavoro;
- iv. in tutti i puledri patologici, al momento dell'ammissione in ospedale, è stata eseguita un'**emocoltura**. In accordo con Reller e colleghi (1982), per l'esecuzione di tale prelievo è stata seguita la procedura sotto descritta:
 - è stata effettuata la tricotomia della regione del collo, a livello del terzo medio lungo il decorso della V. Giugulare;

- indossando un paio di guanti monouso, è stata eseguita la disinfezione chirurgica della parte, mediante tre passaggi alternati di Iodopovidone 10% ed Alcool Etilico;
- sono stati quindi indossanti guanti sterili e sono stati prelevati 3 ml di sangue venoso dalla V. Giugulare, impiegando una siringa sterile. Preservando la sterilità, un nuovo ago è stato innestato al corpo della siringa in oggetto;
- un operatore ha tolto il tappo ermetico di chiusura del terreno di coltura ed ha versato una goccia di Alcool Etilico sopra il caucciù. L'ago è stato inserito nella porzione centrale di quest'ultimo ed il sangue prelevato è stato immesso all'interno del terreno di coltura. Un batuffolo di cotone imbevuto di Alcool Etilico è stato fissato al di sopra del caucciù mediante dello scotch;
- la procedura è stata ripetuta per altre 2 volte per un totale di 9 ml di sangue prelevato ogni 20 minuti;
- il terreno di coltura (OXOID Signal Blood Culture, USA) è stato quindi immesso in un termostato tarato a 37 °C. La validità di questo terreno è stata valutata da altri autori (Daley et al., 1990; Hutchinson et al., 1992; Rohner et al., 1995).

5.1.3 DIAGNOSTICA PER IMMAGINI

Nel caso in cui dall'esame clinico emergesse il sospetto di alterazioni a carico dei capi ossei e/o articolari o a carico delle strutture toraciche, è stato eseguito un opportuno **esame radiografico** a carico di questi apparati. Il puledro è stato contenuto manualmente ed è stato impiegato un apparecchio radiologico portile (Accomat Toshiba 80-20, Japan) ed un sistema di sviluppo digitale (Agfa CR 30-X, USA). Nei casi in cui si riscontrassero segni radiografici indicativi di artrite settica, è stata eseguita un'**artrocentesi** dell'articolazione interessata. Sul liquido prelevato sono stati eseguiti opportuni esami citologici e batteriologici.

Qualora invece la visita clinica indirizzasse verso patologie respiratorie, gastroenteriche o uro-genitali, è stata seguita da uno specifico **esame ecografico**.

A tale scopo il puledro è stato contenuto manualmente e la zona è stata cosparsa con Alcool Etilico. L'indagine ecografica è stata eseguita con l'ecografo portatile MyLabTM 30Gold (Esaote, Italia) impiegando una sonda convex multifrequenza (5-7 Mhz).

5.1.4 COMPILAZIONE SEPSIS e SIRS SCORE

5.1.4.1 Compilazione Sepsis Score (Brewer et al.,1988; Corley e Furr, 2003)

Per ogni puledro è stato compilato il “ Sepsis Score modificato”, proposto da Brewer e colleghi nel 1988 ed applicato successivamente nello studio di Corley e Furr (2003). Nel caso in cui il puledro avesse un’età inferiore a 12 ore e fosse confermata l’assunzione di colostro di buona qualità è stato assegnato un punteggio di 2 alle IgG; qualora il colostro non fosse stato assunto o questo fosse di qualità scadente, è stato attribuito alle IgG un punteggio di 4 (Corley e Furr, 2003). Lo score è dato dalla somma dei punteggi assegnati ad ogni singola voce.

	PUNTEGGIO				
	4	3	2	1	0
Neutrofili (10 ⁹ /l)		<2,0	2,0-4,0 >12,0	8,0-12,0	Normale
N. banda (10 ⁹ /l)		>0,2	0,05-0,20		<0,05
Tossicità Neutrofili	Marcata	Moderata	Leggera		Nessuna
Fibrinogeno (mg/dl)			>600	410-600	<400
Glucosio (mg/dl)			<49	49-79	>79
Ig G (mg/dl)	<200	200-400	400-800		>800
Petecchie, iniezioni della sclera		Marcata	Moderata	Lieve	Nessuna
Temperatura (°C)			>38,9	<37,8	Normale
Ipotonia, depressione, convulsioni			Marcata	Lieve	Normale
Uveite, diarrea, dispnea, artrite		SI			NO
Placentite, scolo vulvare, patologie fattrice, lungo trasporto fattrice, parto indotto		SI			NO
Prematurità		<300 gg	300-310 gg	311-330 gg	>330 gg

Tabella 5.1.4.1.1: “Sepsis Score modificato” (Corley e Furr, 2003 modificato)

5.1.4.2 Compilazione SIRS Score (Corley et al., 2005)

Per ogni puledro è stato inoltre compilato il SIRS Score proposto da Corley e colleghi nel 2005:

	PUNTEGGIO	
	0	1
WBC (K/ μ l)	Fisiologico	<4,0 >12,5 Neutrofili banda >10%
FC (bpm)	Fisiologica	>120
FR (arm)	Fisiologica	>30
T (°C)	Fisiologica	<37,2 >39,2
Altro	-	Evidenza di sepsi, ischemia cerebrale, ipossia, trauma

Tabella 5.1.4.2.1: Voci incluse nel SIRS score (Corley et al., 2005 modificato)

E' opportuno specificare che:

- **l'evidenza di sepsi** è rappresentata dalla positività dell'emocoltura e/o dalla diagnosi microbiologica di infezione localizzata;
- **l'ischemia cerebrale e l'ipossia** sono l'esito finale di molte patologie, tra cui la sindrome asfittica perinatale;
- **la presenza di trauma** è stata riscontrata attraverso l'evidenza clinica o radiografica di fratture costali o di trauma cerebrale.

5.1.5 ANALISI STATISTICA

I dati ottenuti sono stati analizzati, per verificarne la distribuzione, mediante il test di Kolmogorov-Smirnov. Poiché la distribuzione è risultata gaussiana, è stato calcolato l'indice R per ranghi di Spearman.

Considerando come puledri SIRS positivi quelli con SIRS score ≥ 2 , è stato impiegato l'indice R per ranghi di Spearman al fine di evidenziare l'esistenza di un'eventuale correlazione tra la **presenza o assenza di SIRS (si/no)** e:

- Punteggio Sepsis score;
- Presenza o assenza di sepsi, considerando settici tutti i puledri con Sepsis score ≥ 10 (Corley e Furr, 2003);
- Presenza o assenza di sepsi, considerando settici tutti i puledri con Sepsis score ≥ 11 (Brewer e Koterba, 1988);
- Lattatemia
- Glicemia;
- Fibrinogenemia;
- Concentrazione ematica di Neutrofili;
- Esito dell'emocoltura (positiva o negativa).

L'indice R per ranghi di Spearman è stato poi calcolato tra il **punteggio** ottenuto mediante la valutazione del *SIRS score* e:

- Punteggio Sepsis score;
- Presenza o assenza di sepsi, considerando settici tutti i puledri con Sepsis score ≥ 10 (Corley e Furr, 2003);
- Presenza o assenza di sepsi, considerando settici tutti i puledri con Sepsis score ≥ 11 (Brewer e Koterba, 1988);
- Lattatemia
- Glicemia;
- Fibrinogenemia;
- Concentrazione ematica di Neutrofili;
- Esito dell'emocoltura (positiva o negativa).

Con l'obiettivo di ridurre la percentuale di falsi negativi, è stato variato il valore cut-off previsto per il SIRS score, da 2 a 3. Quindi, considerando adesso come positivi tutti i soggetti con SIRS score ≥ 3 , è stato calcolato l'indice R per ranghi di Spearman tra la **presenza o assenza di SIRS (si/no)** e:

- Punteggio Sepsis score;
- Presenza o assenza di sepsi, considerando settici tutti i puledri con Sepsis score ≥ 10 (Corley e Furr, 2003);
- Presenza o assenza di sepsi, considerando settici tutti i puledri con Sepsis score ≥ 11 (Brewer e Koterba, 1988);
- Lattatemia
- Glicemia;
- Fibrinogenemia;
- Concentrazione ematica di Neutrofili;
- Esito dell'emocoltura (positiva o negativa).

I risultati sono stati considerati statisticamente significativi per $p < 0,05$. L'analisi statistica è stata effettuata con fogli di calcolo commerciali (Microsoft Excel:11® 11 e GraphPad Prism 6.0®, per Windows).

5.2 RISULTATI

La popolazione inclusa nello studio era composta da 46 puledri affetti da stati patologici di varia natura.

Dei soggetti inclusi nello studio, il 34,8% era di razza Trottatore italiano (16/46), il 15,2% PSI (7/46), il 10,8% Sella Italiano (5/46), l'8,7% Quarter Horse (4/46), il 6,5% Pony Shetland (3/46), 6,5% Paint Horse (3/46), il 4,3% Pura Raza Española (PRE) (2/46), il 2,2% PSA (1/46), il 2,2% Appaloosa (1/46), il 2,2% Tiro Pesante Rapido (TPR) (1/46), il 2,2% Morgan (1/46), il 2,2% Bardigiano (1/46) e il 2,2% Indigeno (1/46).

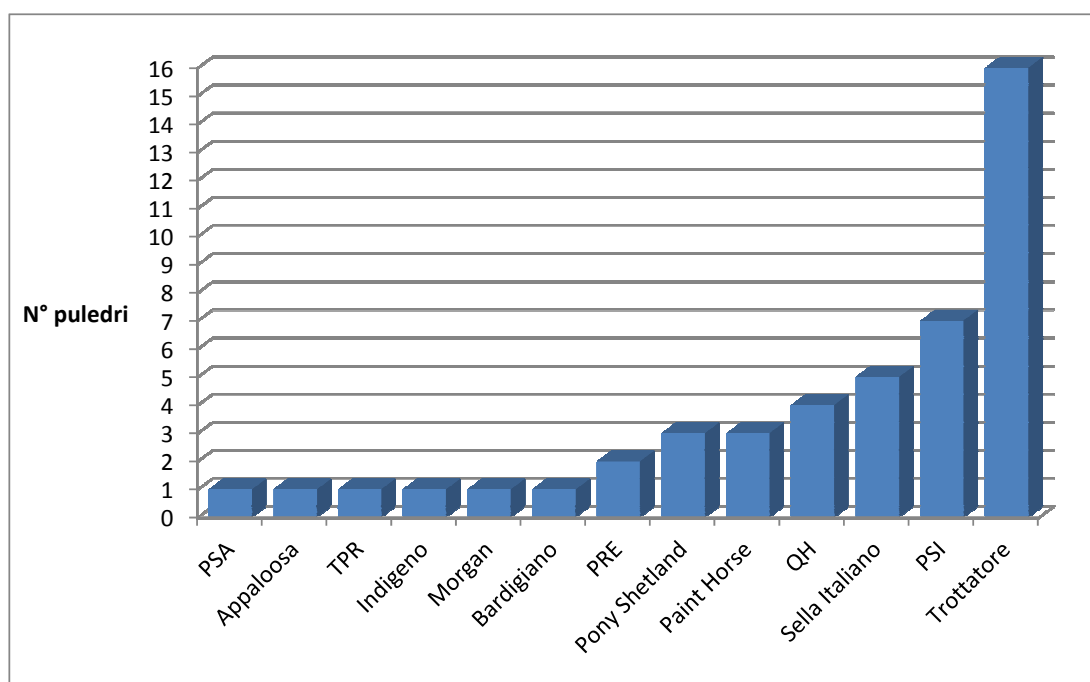


Grafico 5.2.1: Distribuzione del gruppo di studio secondo la razza

La popolazione in oggetto ha mostrato un'equa distribuzione per quanto riguarda il sesso: il 54,4%, pari 25/46 della popolazione presa in esame era composto da puledri di sesso maschile, mentre il 45,6%, erano femmine.

I puledri presi in oggetto avevano un'età compresa tra 1 e 90 giorni e in particolare:

- 27/46 puledri, pari al 58,7% della popolazione inclusa nello studio aveva un'età compresa tra 0 e 48 ore;
- 9/46, pari al 19,6% dei puledri totali, aveva un'età compresa tra 3 e 7 gg;
- 6/46 soggetti, cioè il 13,0% della popolazione, aveva un'età compresa tra 15 e 30 gg;
- 4/46, ovvero l'8,7% dei soggetti esaminati, aveva un'età compresa tra 2 e 3 mesi.

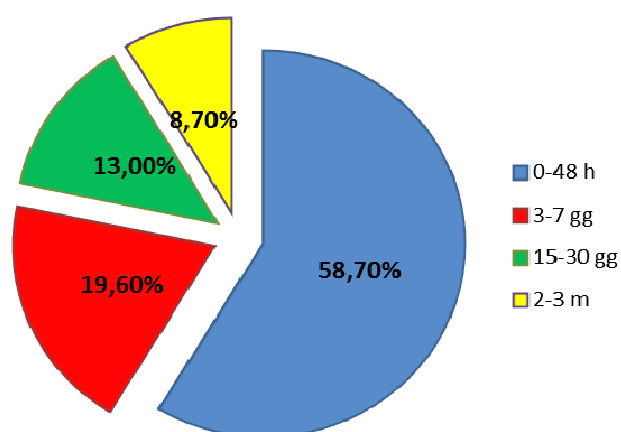


Grafico 5.2.2: Distribuzione del gruppo di studio secondo l'età.

Le patologie neonatali maggiormente riscontrate sono riportate nella Tabella 5.2.1:

STATO PATOLOGICO	N° puledri	%
FPT	17	37,0
Polmonite	11	23,9
Colica intestinale da costipazione	4	8,7
Uraco pervio	3	6,5
Enterocolite	3	6,5
Sindrome da Asfissia Perinatale	2	4,4
MODS	2	4,4
Colangioepatite	1	4,4
Rottura della vescica	1	2,2
Ernia inguinale	1	2,2
IRA	1	2,2

Tabella 5.2.1: Patologie diagnosticate nel gruppo di studio

In Tabella 5.2.2 sono riportati il SIRS score, la presenza/assenza di SIRS per SIRS scale ≥ 2 e ≥ 3 , il Sepsis Score e la presenza/assenza di sepsi per Sepsis score ≥ 10 e ≥ 11 .

Puledro	PUNTEGGIO SIRS	SIRS si/no (≥ 2)	SIRS si/no (≥ 3)	PUNTEGGIO SEPSIS	SEPSI si/no (≥ 10)	SEPSI si/no (≥ 11)
1	4	SI	SI	17	SI	SI
2	3	SI	SI	14	SI	SI
3	4	SI	SI	16	SI	SI
4	4	SI	SI	12	SI	SI
5	5	SI	SI	13	SI	SI
6	5	SI	SI	8	NO	NO
7	3	SI	SI	6	NO	NO
8	2	SI	NO	10	SI	NO
9	2	SI	NO	3	NO	NO
10	2	SI	NO	1	NO	NO
11	4	SI	SI	13	SI	SI
12	4	SI	SI	13	SI	SI
13	3	SI	SI	13	SI	SI
14	3	SI	SI	12	SI	SI
15	5	SI	SI	6	NO	NO
16	3	SI	SI	17	SI	SI
17	5	SI	SI	17	SI	SI
18	2	SI	NO	10	SI	NO
19	5	SI	SI	22	SI	SI
20	3	SI	SI	2	NO	NO
21	3	SI	SI	16	SI	SI
22	5	SI	SI	14	SI	SI
23	4	SI	SI	12	SI	SI
24	4	SI	SI	12	SI	SI
25	5	SI	SI	15	SI	SI
26	2	SI	NO	13	SI	SI
27	4	SI	SI	13	SI	SI
28	3	SI	SI	10	SI	NO
29	2	SI	NO	13	SI	SI
30	1	NO	NO	8	NO	NO
31	2	SI	NO	10	SI	NO
32	4	SI	SI	12	SI	SI
33	2	SI	NO	8	NO	NO
34	3	SI	SI	13	SI	SI
35	2	SI	NO	7	NO	NO
36	4	SI	SI	9	NO	NO
37	2	SI	NO	8	NO	NO
38	2	SI	NO	15	SI	SI
39	2	SI	NO	11	SI	SI
40	3	SI	SI	13	SI	SI
41	3	SI	SI	7	NO	NO
42	3	SI	SI	11	SI	SI
43	2	SI	NO	12	SI	SI
44	3	SI	SI	9	NO	NO
45	3	SI	SI	13	SI	SI
46	3	SI	SI	6	NO	N=

Tabella 5.2.2: SIRS score, SIRS si/no (punteggio ≥ 2 e ≥ 3), Sepsis score, Sepsis si/no (punteggio ≥ 10 e ≥ 11) nella nostra popolazione

In base ai nostri risultati, 45/46 (97,8%) puledri sono risultati SIRS positivi (per SIRS scale ≥ 2) e 32/46 (69,6%) sono risultati SIRS positivi, utilizzando un cut-off ≥ 3 .

Inoltre, 32/46 (69,6%) hanno ottenuto un punteggio di almeno 10 al Sepsis score, risultando settici secondo lo studio di Corley e Furr (2003) e 28/46 (60,9%) hanno totalizzato un punteggio superiore a 11 (Sepsis score positivi in accordo con lo studio di Brewer e Koterba (1988)).

La mediana del punteggio ottenuto al SIRS score è risultata pari a 3 mentre quella ottenuta al Sepsis score è stata uguale a 12.

La **presenza/assenza di SIRS**, stabilita utilizzando il cut-off ≥ 2 , non è risultata statisticamente correlata né al Sepsis score ($p=0,3295$), né alla presenza/assenza di sepsi (cut-off ≥ 10 : $p=0,1321$; cut-off ≥ 11 : $p=0,2160$), né alla lattatemia ($p=0,2245$), né alla glicemia ($p=0,6035$), né alla fibrinogenemia ($p=0,8821$), né alla concentrazione ematica dei Neutrofili ($p=0,7388$) e neppure all'esito dell'emocoltura ($p=0,1527$).

Nella nostra popolazione, i **punteggi** ottenuti impiegando il **SIRS score**, sono risultati statisticamente correlati ai punteggi ottenuti mediante Sepsis score ($p=0,0067$) e alla presenza/assenza di Sepsis, dove tale esistenza era riferita ad un Sepsis score ≥ 11 ($p=0,0121$) ma non ≥ 10 ($p=0,1567$).

Non si è evidenziata nessuna correlazione statistica tra il SIRS score e la lattatemia ($p=0,3155$), la glicemia ($p=0,7481$), la fibrinogenemia ($p=0,9023$), la concentrazione ematica dei Neutrofili ($p=0,3626$) e l'esito dell'emocoltura ($p=0,6755$).

Considerando, infine, la presenza di SIRS come il riscontro di un SIRS score ≥ 3 , la **presenza/assenza di SIRS** è risultata statisticamente correlata ai punteggi ottenuti mediante Sepsis score ($p=0,0269$) ed alla presenza/assenza di Sepsis, qualora venisse impiegato per quest'ultima un valore cut-off ≥ 11 ($p=0,0204$) ma non ≥ 10 ($p=0,2351$).

Non si è evidenziata nessuna correlazione statistica tra la presenza/assenza di risposta infiammatoria sistemica e la lattatemia ($p=0,4052$), la glicemia ($p=0,4510$), la fibrinogenemia ($p=0,8051$), la concentrazione ematica dei Neutrofili ($p=0,8695$) e l'esito dell'emocoltura ($p=0,7725$).

5.3 DISCUSSIONI e CONCLUSIONI

Una delle condizioni di più difficoltosa risoluzione, in cui si può trovare il Medico Veterinario ippiatra, è la gestione della sindrome da risposta infiammatoria sistemica (SIRS) nel puledro neonato. In neonatologia equina, questa sindrome è frequentemente associata alla presenza di un processo infettivo, ed è pertanto definita come la manifestazione clinica della sepsi. Nonostante i notevoli progressi compiuti nella gestione medica di quest'ultima, il tasso di mortalità nei puledri rimane alto. Ciò è dovuto alla natura multifattoriale della sindrome, alla sua diagnosi spesso tardiva ed alla rapida progressione della SIRS verso lo shock ipotensivo e la morte (Mc Kenzie e Furr, 2001; Furr, 2003; Paradis, 2003).

Le manifestazioni cliniche che si osservano in corso di sepsi sono la depressione del sensorio, l'anoressia, il decubito prolungato, la disidratazione, la tachicardia, la tachipnea e l'ipo/ipertermia. Queste alterazioni possono essere accompagnate da segni localizzati di infezione, quali diarrea, uveite, convulsioni, artrite, dispnea, ascessi sottocutanei e onfalite (Sanchez, 2005).

Così come la clinica, anche la diagnostica di laboratorio non fornisce informazioni patognomiche di sepsi. La leucopenia/leucocitosi, la neutropenia/neutrofilia (con left shift degenerativo e segni cellulari di tossicità), l'iperfibrinogenemia, l'ipoglicemia, l'azotemia, l'iperbilirubinemia, l'acidosi, l'iperlattatemia e la DIC che essa mette in evidenza, sono infatti riscontri comuni a molti stati patologici (Sanchez, 2005). La positività all'emocoltura rimane, dunque, l'unica testimonianza di batteriemia, ma questa modalità diagnostica presenta limitazioni di ordine tempistico (sono necessarie almeno 24-48 ore per ottenere i primi risultati) e predittivo (si osservano frequentemente false negatività) (Sanchez, 2005; Leth et al, 2013).

Da quanto sopra detto, appare evidente l'importanza che assume una diagnosi precoce, fornendo le basi per l'impostazione di un celere ed adeguato piano terapeutico. E' proprio in quest'ottica che sono stati definiti il Sepsis ed il SIRS score.

Il Sepsis Score, sviluppato da Brewer e Koterba nel 1988, e in seguito applicato nello studio di Corley e Furr (2003), prende in esame 14 parametri (12 per quello "modificato") di ordine anamnestico, clinico e di laboratorio a cui assegna un punteggio compreso tra 0 e 4. La somma dei singoli punteggi determina il *total*

score. Nello studio di Brewer e Koterba (1988) un total score maggiore o uguale a 11 è stato correlato con la presenza di Sepsis nel 93% dei casi, mentre nel lavoro di Corley e colleghi (2003) il valore cut-off è stato fissato a 10, ottenendo una sensibilità diagnostica del 74% ed una specificità del 73% (“Sepsis Score modificato” a 12 parametri).

Corley e colleghi (2005) rifacendosi alle linee guida internazionali stabilite dall’ACCP/SCCM Consensus Conference in materia di risposta infiammatoria sistemica, hanno definito per la specie equina un SIRS scoring system che prende in esame cinque parametri di ordine clinico e di laboratorio .

Il SIRS score, rispetto al Sepsis score, è di più semplice impiego e comporta un minor dispendio di tempo e di denaro; di contro, alcuni autori hanno messo in evidenza la sua elevata sensibilità e la sua mancanza di specificità, che si traduce, di fatto, in un elevato numero di false positività (Opal, 1998; Alberti et al., 2003).

A fronte di questi numerosi vantaggi, negli ultimi anni il SIRS score ha registrato un incremento d’impiego nell’ambito della clinica equina (Dellinger et al., 2013).

Con il nostro studio abbiamo voluto indagare la correlazione esistente tra il Sepsis e il SIRS score, per valutare se quest’ultimo poteva essere impiegato in sostituzione del primo nella valutazione dello stato settico. Abbiamo inoltre studiato se l’impiego di singoli parametri (lattatemia, glicemia, fibrinogenemia, neutrofilia, emocultura) potesse sostituire quello dei più elaborati scoring system in tale valutazione.

Per far ciò abbiamo applicato entrambi gli score in una popolazione composta da 46 puledri patologici, ricoverati dal 2010 al 2014 presso l’Ospedale Didattico Veterinario “Mario Modenato” di Pisa, l’Ospedale Clinico Veterinario dell’Universitat Autònoma de Barcelona ed il Veterinary Teaching Hospital della Cornell University.

Nel nostro lavoro sperimentale, la presenza di sepsi, stabilita impiegando il cut-off “ ≥ 10 ” al Sepsis score, non è risultata correlata alla presenza di una sindrome da risposta infiammatoria sistemica, sia che venisse utilizzato come criterio discriminatorio per quest’ultima un SIRS scale pari a 2 o a 3.

In accordo con lo studio di Brewer e Koterba (1988) , nel nostro lavoro sperimentale abbiamo dunque definito la presenza di Sepsis come il riscontro di un punteggio almeno pari a 11 al Sepsis score. Impiegando tale limite, è stato possibile relazionare

la sepsi alla SIRS e, in particolare, il punteggio ottenuto mediante SIRS score è risultato statisticamente correlato unicamente al punteggio ottenuto attraverso il Sepsis score e alla presenza/assenza di sepsi (Sepsis score ≥ 11).

Utilizzando " ≥ 2 " come valore di cut-off per la SIRS, non si è evidenziata alcuna corrispondenza tra la presenza di SIRS, l'evidenza di sepsi (Sepsis score ≥ 11), il Sepsis score e i singoli parametri di laboratorio.

Poiché nell'ambito della neonatologia equina la tachipnea e la tachicardia sono alterazioni di frequente riscontro, non patognomoniche di risposta infiammatoria sistemica, si è ipotizzato che la mancanza di correlazione tra sepsi e SIRS fosse dovuta alla presenza di un numero significativo di false positività. Abbiamo pertanto proceduto ad innalzare il valore cut-off per il SIRS score, portandolo da 2 a 3.

Impiegando questo nuovo limite, è stata rilevata una correlazione statistica tra la presenza/assenza di SIRS, la presenza di sepsi (Sepsis score ≥ 11) ed il punteggio ottenuto al Sepsis score. E' rimasta però invariata l'assenza di correlazione statistica tra la lattatemia, la glicemia, la fibrinogenemia, la neutofilia, l'emocultura e la presenza di SIRS.

In conclusione, alla luce della casistica raccolta e del confronto con la letteratura, possiamo affermare che è possibile impiegare il SIRS score in sostituzione del più complesso Sepsis score nella caratterizzazione del processo settico, a condizione, però, che venga innalzato da 2 a 3 il cut-off oltre il quale il puledro è definito SIRS positivo. Ciò permette di approntare un rapido trattamento terapeutico, a base di cristalloidi, antinfiammatori non steroidei ed antibiotici a largo spettro, in attesa dei risultati diagnostici più accurati. L'impiego di singoli parametri non fornisce di per sé alcuna informazione sulla presenza di una risposta infiammatoria sistemica. Al contrario, tali analisi assumono un significato diagnostico quando sono inseriti all'interno di uno scoring system multi-parametrico.

Sebbene sia stata messa in evidenza una correlazione statistica tra i due scoring system, rimane da dimostrare una loro corrispondenza con la gravità della sintomatologia clinica e con l'out-come del paziente. Tutto ciò invita, quindi, ad ampliare, con ulteriori studi, i margini di tale ricerca, incrementando il numero di campioni presi in esame.

BIBLIOGRAFIA

1. ACCP/SCCM Consensus Conference (1992). Definitions of sepsis and multiple organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit. Care Med 20: 864-874.
2. Alberti C, Brun-Buisson C, Goodman SV, Guidici D, Granton J, Moreno R, Smithies M, Thomas O, Artigas A, Le Gall JR (2003). Influence of Systemic Inflammatory Response Syndrome and Sepsis on Outcome of Critically ill Infected Patients. Am J Respir Crit Care Med 168: 77-84.
3. Antonelli M, Moreno R, Vincent JL, Sprung CL, Mendonça A, Passariello M, Riccioni L, Osborn J (1999). Application of SOFA score to trauma patients. Sequential Organ Failure Assessment. Intensive Care Med 25: 389-394.
4. Barton MH. Septicemia. In Paradis MR, Equine Neonatal Medicine_a case-based approach, Elsevier-Saunders 1st ed, 2006, pp 75-97.
5. Bentley AM, Otto CM, Shofer FS (2007). Comparison of dogs with septic peritonitis: 1988-1993 versus 1999-2003. J Vet Emerg Crit Care 17(4): 391-398.
6. Berger T, Green J, Horeczko T, Hagar Y, Garg N, Suarez A, Panacek EA, Shapiro N (2013). Shock Index and Early Recognition of Sepsis in the Emergency Department: Pilot Study. West J Emerg Med 14 (2): 168-174.
7. Berk JL, Hagen JF, Beyer WH, Gerber MJ, Dochat GR (1969). The Treatment of Endotoxin Shock by Beta Adrenergic Blockade. Ann Surg 169 (1): 74-81.
8. Bochicchio GV, Sung J, Joshi M (2005). Persistent hyperglycemia is predictive of outcome in critically ill trauma patients. J Trauma 58:921-924.
9. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM and Sibbald WJ (1992). Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Chest 101: 1644-1655.

10. Bone RC, Fisher CJ, Clemmer TP (1989). Sepsis syndrome: A valid clinical entity. *Crit. Care Med* 17: 389–393.
11. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA (1997). Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process. *Chest* 112: 235-243.
12. Brady CA, Otto CM (2001). Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunction. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 31: 1147-1162.
13. Brady CA, Otto CM, Van Winkle TJ, King LG (2000). Severe sepsis in cats: 29 cases (1986-1998). *J Am Vet Med Assoc* 217(4): 531-535.
14. Brewer BD, Koterba AM (1988). Development of a scoring system for the early diagnosis of equine neonatal sepsis. *Equine vet J* 20: 18-22.
15. Brewer BD, Koterba AM, Carter RL, Rowe ED (1988). Comparison of empirically developed sepsis score with a computer generated and weighted scoring system for the identification of sepsis in the equine neonate. *Equine vet J* 20: 23-24.
16. Cook R, Cook D, Tilley J, Lee K, Marshall J (2001). Multiple organ dysfunction: baseline and serial component scores. *Crit Care Med* 29: 2046-2050.
17. Corley KTT, Donaldson LL, Furr MO (2005). Arterial lactate concentration, hospital survival, sepsis and SIRS in critically ill neonatal foals. *Equine Vet J* 37: 53-59.
18. Corley KTT, Furr MO (2003). Evaluation of a score designed to predict sepsis in foals. *J Vet Emerg Crit Care* 13: 149–155.
19. Cullen DJ, Civetta JM, Briggs BA, Ferrara LC (1974). Therapeutic intervention scoring system: a method for quantitative comparison of patient care. *Crit Care Med* 2: 57-60.

20. Daley C, Lim I, Modra J, Wilkinson I (1990). Comparative evaluation of nonradiometric BACTEC and improved oxoid signal blood culture systems in a clinical laboratory. *J Clin Microbiol* 28: 1586-1590.
21. De Backer D (2003). Lactic acidosis. *Intensive Care Med* 29: 699-702.
22. DeClue AE, Delgado C, Chang C, Sharp CR (2011). Clinical and immunologic assessment of sepsis and the systemic inflammatory response syndrome in cats. *JAVMA* 238: 890-897.
23. DeClue AE, Osterbur K, Bigio A, Sharp CR (2011). Evaluation of Serum NT-pCNP as a Diagnostic and Prognostic Biomarker for Sepsis in Dogs. *J Vet Intern Med* 25: 453–459.
24. DeClue AE, Williams KJ, Sharp C, Haak C, Lechner E, Reinero CR (2009). Systemic response to low-dose endotoxin infusion in cats. *Vet Immunol Immunopathol* 132: 167–174.
25. DeClue AE. Sepsis and the Systemic Inflammatory Response Syndrome. In Ettinger SJ, Feldman EC, *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Saunders Elsevier 7th ed, 2010, (1) pp 523-527.
26. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb S, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R (2013). Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 39(2):165-228.
27. Dionigi R, Dominioni L, Jemos V, Cremaschi R, Bobbio-Pallavicini F, Ballabio A (1985). Sepsis score and complement factor B for monitoring severely septic surgical patients and for predicting their survival. *Eur Surg Res* 17: 269-280.

28. Dominioni L, Dionigi R, Zanello M, Monico R, Cremaschi Dionigi R, Ballabio A, Massa M, Comelli M, Dal Ri P, Pisati P (1987). Sepsis Score and acute-phase protein response as predictors of outcome in septic Surgical Patients. *Arch Surg* 122: 141-146.
29. Elebute EA, Stoner HB (1983). The grading of sepsis. *Br J Surg* 70: 29-31.
30. Faustino EV, Apkon M (2005). Persistent hyperglycemia in critically ill children. *J Pediatr* 146:30–34.
31. Fecteau G, Paré J, Van Metre DC, Smith BP, Holmberg CA, Guterbock W, Jang S (1997). Use of a clinical sepsis score for predicting bacteraemia in neonatal dairy calves on a calf rearing farm. *Can Vet J* 38: 101-104.
32. Furr MO (2003). Systemic Inflammatory Response Syndrome, Sepsis, and antimicrobial therapy. *Clinical techniques in Equine Practice* 2: 3-8.
33. Gebhardt C, Hirschberger J, Rau S, Arndt G, Krainer K, Schweigert FJ, Brunnberg L, Kaspers B, Kohn B (2009). Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. *J Vet Emerg Crit Care* 19: 450–458.
34. Ghanem-Zoubi NO, Vardi M, Laor A, Weber G, Bitterman H (2011). Assessment of disease-severity scoring systems for patients with sepsis in general internal medicine departments. *Critical Care* 15: 1-7.
35. Green JP, Berger T, Garg N, Horeczko T, Suarez A, Radeos MS, Hagar Y, Panacek EA (2012). Hyperlactatemia Affects the Association of Hyperglycemia with Mortality in Nondiabetic Adults With Sepsis. *Acad Emerg Med* 19: 1268–1275.
36. Grzybowski M (1996). Systemic inflammatory response syndrome criteria and lactic acidosis in the detection of critical illness among patients presenting to the emergency department. *Chest* 110-145.
37. Gupta S, Jonas M (2006). Sepsis, septic shock and multiple organ failure. *Anaesth Intensive Care* 7 (5): 143-146.

38. Hagman R, Reezigt BJ, Ledin HB, Karlstam E (2009). Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta Vet Scand* 51:1-9.
39. Hardie EM (1995). Life-threatening bacterial infection. *Compend Contin Educ Pract Vet* 17:763-777.
40. Hashimoto-Hill S, Magdesian KG, Kass PH (2011). Serial Measurement of Lactate Concentration in Horses with Acute Colitis. *J Vet Intern Med* 25: 1414–1419.
41. Hauptman JG, Walshaw R, Olivier NB (1997). Evaluation of the Sensitivity and Specificity of Diagnostic Criteria for Sepsis in Dogs. *Vet Surg* 26: 393-397.
42. Henderson ISF (2013). Diagnostic and prognostic use of L-lactate measurement in equine practice. *Equine vet Educ* 25 (9): 468-475.
43. Holbeck S, Grände PO (2002). Hypovolemia is a main factor behind disturbed perfusion and metabolism in the intestine during endotoxemia in cat. *Shock* 18 (4): 367–373.
44. Hollis AR, Boston RC, Corley KTT (2007). Blood glucose in horses with acute abdominal disease. *J Vet Intern Med* 21:1099–1103.
45. Hollis AR, Furr MO, Magdesian KG, Axon JE, Ludlow V, Boston RC, Corley KTT (2008). Blood Glucose Concentrations in Critically Ill Neonatal Foals. *J Vet Intern Med* 22: 1223–1227.
46. Husain FA, Martin MJ, Mullenix PS, Steele SR, Elliott DC (2003). Serum lactate and base deficit as predictors of mortality and morbidity. *Am J Surg* 185: 485-491.
47. Hutchinson NA, Thomas FD, Shanson D (1992). The clinical comparison of Oxoid Signal with Bactec blood culture systems for the detection of streptococcal and anaerobic bacteraemias. *J Med Microbiol* 37: 410-412.

48. Khanna AK, Meher S, Prakash S, Tiwary SK, Singh U, Srivastava A, Dixit VK (2013). Comparison of Ranson, Glasgow, MOSS, SIRS, BISAP, APACHE-II, CTSI Scores, IL-6, CRP, and Procalcitonin in Predicting Severity, Organ Failure, Pancreatic Necrosis, and Mortality in Acute Pancreatitis. *HPB Surg* 1-10.
49. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE (1985). APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13: 818-829.
50. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, Sirio CA, Murphy DJ, Lotring T, Damiano A (1991). The APACHE III prognostic system. Risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults. *Chest* 100: 1619-1636.
51. Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA, Lawrence DE (1981). APACHE- acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Crit Care Med* 9: 591-7.
52. Koterba AM, Brewer BD, Tarplee FA (1984). Clinical and clinicopathological characteristics of the septicaemic neonatal foal : Review of 38 cases. *Equine Vet J* 16 (4): 376-383.
53. Laforcade AM, Freeman LM, Shaw SP, Brooks MB, Rozanski EA, Rush JE, (2003). Hemostatic Changes in Dogs with Naturally Occurring Sepsis. *J Vet Intern Med* 17:674–679.
54. Laforcade AM, Rozanski EA, Freeman LM, Li W (2008). Serial Evaluation of Protein C and Antithrombin in Dogs with Sepsis. *J Vet Intern Med* 22: 26–30.
55. Lawrence E, Stevens MD (1983). Gauging the severity of Surgical Sepsis. *Arch Surg* 118: 1190-1192.
56. Le Gall JR, Klar J, Lemeshow S, Saulnier F, Alberti C, Artigas A, Teres D (1996). The Logistic Organ Dysfunction system. A new way to assess organ dysfunction in the intensive care unit. *JAMA* 276 (10): 802-810.

57. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F (1993). A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA* 270: 2957-2963.
58. Le Gall JR, Loirat P, Alperovitch A, Glaser P, Granthil C, Mathieu D, Mercier P, Thomas R, Villers D (1984). A simplified acute physiology score for ICU patients. *Crit Care Med* 12: 975-977.
59. Lesley GK (1994). Postoperative complications and prognostic indicators in dogs and cats with septic peritonitis: 23 cases (1989 - 1992). *JAVMA*, 204: 407-414.
60. Lester GD. Prematurity, dismaturity and assessment of maturity. In McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD, *Equine reproduction*, Wiley-Blackwell, 2nd ed, 2011, pp 121-127.
61. Leth RA, Forman BE, Kristensen B (2013). Predicting bloodstream infection via systemic inflammatory response syndrome or biochemistry. *J Emerg Med* 44: 550–557.
62. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G (2003). SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 31:1250–1256.
63. Malone DL, Kuhls D, Napolitano LM, McCarter R, Scalea T (2001). Back to Basics: Validation of the Admission Systemic Inflammatory Response Syndrome Score in Predicting Outcome in Trauma. *J Trauma* 51:458 –463.
64. Marshall JC, Cook DJ, Christou NV, Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ (1995). Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care Med* 23: 1638-1652.
65. Matijatko V, Kis I, Torti M, Brkljacic M, Kucer N, Rafaj RB, Grden D, Zivicnjak T, Mrljak V (2009). Septic shock in canine babesiosis. *Vet Parasitol* 162: 263–270.

66. Mato AR, Fuchs BD, Heitjan DF, Mick R, Halpern SD, Shah PD, Jacobs S, Olson E, Schuster SJ, Ujjani C, Chong EA, Loren AW, Miltiades AN, Luger SM (2009). Utility of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) criteria in predicting the onset of septic shock in hospitalized patients with hematologic malignancies. *Cancer Biol Ther* 8 (12): 1095-1100.
67. Mc Kenzie HC, Furr MO (2001). Equine Neonatal Sepsis: The Pathophysiology of Severe Inflammation and Infection. *Compendium* 23 (7): 661-672.
68. McKenzie HC, Furr MO, (2001). Equine neonatal sepsis: the pathophysiology of severe inflammation and infection. *Compend Contin Educ Vet* 23: 661-672.
69. Mendoza A, Kim YN, Chernoff A (2005). Hypoglycemia in hospitalized adult patients without diabetes. *Endocr Pract* 11:91–96.
70. Moemen ME (2012). Prognostic categorization of intensive care septic patients. *World J Crit Care Med* 1: 67-79.
71. Moomey CB Jr, Melton SM, Croce MA, Fabian TC, Proctor KG (1999). Prognostic value of blood lactate, base deficit, and oxygen-derived variables in an LD50 model of penetrating trauma. *Crit Care Med* 27:154–61.
72. NeSmith EG, Weinrich SP, Andrews JO, Medeiros RS, Hawkins ML, Weinrich M (2009). Systemic Inflammatory Response Syndrome score and race as predictors of length of stay in the intensive care unit. *AJCC* 18 (4): 339-345.
73. Nguyen HB, Rivers E, Knoblich BP (2004). Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*, 32: 1637-1642.
74. Nguyen HB, Rivers EP, Knoblich BP (2004). Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 32:1637– 42.
75. Nieuwenhoven EJ, Lefering R, Neugebauer E, Goris RJA (1998). Clinical relevance of sepsis scores. *Langenbecks Arch Surg* 383: 11–14.

76. Nystrom PO (1998). The systemic inflammatory response syndrome: definitions and aetiology. *J Antimicrob Chemother* 41: 1–7.
77. Okano S, Yoshida M, Fukushima U, Higuchi S, Takase, Hagagio M (2002). Usefulness of systemic inflammatory response syndrome criteria as an index for prognosis judgement. *Vet Rec* 150: 245-246.
78. Opal SM (1998). The uncertain value of the definition for SIRS. *Chest* 113: 1442–1443.
79. Patara AC, Caldeira JA, Mattos-Junior E, Carvalho HS, Reinoldes A, Pedron GB, Patara M, Talib MSF, Faustino M, Oliveira CM, Cortopassi SRG (2012). Changes in tissue perfusion parameters in dogs with severe sepsis/septic shock in response to goal directed hemodynamic optimization at admission to ICU and the relation to outcome. *J Vet Emerg Crit Care* 22: 409–418.
80. Patrozou E, Opal SM (2011). What is inflammation, what is sepsis, what is MODS. *Chest* 1: 151-156.
81. Postel J, Schloerb PR (1977). Metabolic effects of experimental bacteremia. *Ann Surg* 475-480.
82. Purvis D, Kirby R (1994). Systemic inflammatory response syndrome: Septic shock. *Vet Clin North Am* 24:1225-1247.
83. Raghavan M, Marik EP (2006). Management of sepsis during the early “golden hours”. *J Emerg Med* 31: 185–199.
84. Reller LB, Murray PR, MacLowry JD (1982). Cumitech 1A, Blood cultures II. Coordinating ed, JA Washington II. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
85. Riedel S (2012). Procalcitonin and the role of biomarkers in the diagnosis and management of sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 73: 221-227.
86. Rohner P, Pepey B, Auckenthaler R (1995). Comparison of BacT/Alert with Signal Blood Culture System. *J Clin Microbiol* 33: 313-317.

87. Roy MF (2004). Sepsis in adults and foals. *Vet Clin Equine* 20 : 41–61.
88. Sakamoto Y, Mashiko K, Matsumoto H, Hara Y, Kutsukata N, Yokota H (2010). Systemic Inflammatory Response Syndrome Score at Admission Predicts Injury Severity, Organ Damage and Serum Neutrophil Elastase Production in Trauma Patients. *J Nippon Med Sch* 77: 138-144.
89. Sanchez LC (2005). Equine neonatal sepsis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 21: 273-293.
90. Scott HF, Donoghue AJ, Gaieski DF, Marchese RF, Mistry RD (2012). The Utility of Early Lactate Testing in Undifferentiated Pediatric Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Acad Emerg Med* 19:1276–1280.
91. Stoneham SJ. Assessing the newborn foal. In Paradis MR, *Equine neonatal medicine: a case-based approach*, Elsevier-Saunders 1st ed, 2006, pp 1-11.
92. Sung J, Bochicchio GV, Joshi M (2005). Admission hyperglycemia is predictive of outcome in critically ill trauma patients. *J Trauma* 59:80–83.
93. Talmor M, Hydo L, Barie PS (1999). Relationship of Systemic Inflammatory Response Syndrome to Organ Dysfunction, Length of Stay and Mortality in Critical Surgical Illness. *Arch Surg* 134: 81-87.
94. Vaala WE (1994). Perinatology. *Vet Clin N Am Equine Pract* 10:237-265.
95. Vaala WE, House JK, Lester GD. Neonatal Infection. In Smith BP, *Large Animal Internal Medicine*, Elsevier-Mosby 4th ed, 2009, pp 281-291.
96. Vincent JL (2009). Sepsis and Non-infectious Systemic Inflammation. *Crit Care Med* 1: 3-10.
97. Vincent JL, Ferreira F, Moreno R (2000). Scoring systems for assessing organ dysfunction and survival. *Crit Care Clin* 16: 353-366.
98. Vitek V, Cowley RA (1971). Blood lactate in the prognosis of various forms of shock. *Ann Surg* 173:308 –313.

99. Walker A, Jang S, Hirsch D (2000). Bacteria associated with pyothorax of dogs and cats: 80 cases (1989-1998). *J Am Vet Med Assoc* 216: 359-363.
100. Wang GQ, Xia ZF, Yu BA, Ge SD, Chen YL, Liu SK (1999). The clinical significance of the SIRS scoring system in severely burned patients. *Ann Burns Fire Disasters* 12 (4)
101. Weiss DJ, Rashid J (1998). The Sepsis-coagulant Axis: A Review. *J Vet Inter Med* 12: 317-324.
102. Wenz JR, Barrington GM, Garry FB, Dinsmore RP, Callan RJ (2001) Use of systemic disease signs to assess disease severity in dairy cows with acute coliform mastitis. *J Am Vet Med Assoc* 218: 567-572.
103. Wenz JR, Garry FB, Barrington GM (2006). Comparison of disease severity scoring systems for dairy cattle with acute coliform mastitis. *JAVMA* 229: 259-262.
104. Wintergest KA, Buckingham B, Gandrud L (2006). Association of hypoglycemia, hyperglycemia, and glucose variability with morbidity and death in the pediatric intensive care unit. *Am Acad Pediatrics* 118:173–179.
105. Wong DT, Knaus WA (1991). Predicting outcome in critical care: the current status of the APACHE prognostic scoring system. *Can J Anaesth* 38:374-383.
106. Yilmaz Z, Ilcol YO, Ulus IH (2008). Endotoxin increases plasma leptin and ghrelin levels in dogs. *Crit Care Med* 36: 828-833.

RINGRAZIAMENTI

Ripercorro con la mente tutto questo “infinito-finito” percorso di studi, dall’ansia per il test di ammissione, all’ansia per l’appello di laurea.

Ansia, la prima cosa che, sconvolgendo tutto il “Bon Ton” dei ringraziamenti, mi sento in dovere di ringraziare, per avermi sempre accompagnata in tutto il mio cammino, da un esame al successivo, da un puledro critico all’altro.

Così come non mi hanno mai lasciata sola le mie relatrici, la Dott.ssa Sgorbini e la Dott.ssa Bonelli. Indirizzandomi verso il mondo del lavoro, mi hanno trasmesso la loro conoscenza e la loro passione per la medicina equina.

Con in tasca l’inventario del lunedì mattina e con in macchina la “scatola delle uscite”, a cui mancava rigorosamente qualcosa, con la loro professionale “serenità”, mi hanno insegnato a gestire perfino i pazienti più critici. Grazie!

Ringrazio il Prof. Corazza, per la sua costante disponibilità e per avermi trasmesso il sapore insaziabile della conoscenza.

Ringrazio il Prof. Camillo, la Dott.ssa Rota, Il Dott. Panzani e la Dott.ssa Sabatini perché mi hanno accolto nel team “EquiRipro”, facendomi sentire parte di quel fantastico mondo composto da travagli, uteri e seme.

Un mio grazie sincero va anche al Dott. Fusar Bassini per le sue sempre-pacate spiegazioni ed al Dott. Vanni per il suo prezioso supporto nella diagnostica di laboratorio.

Ringrazio, quindi, i docenti, gli studenti ed in generale tutto il personale della UAB e della Cornell University, per la collaborazione a questo lavoro sperimentale.

Ringrazio la mia famiglia, che in questi anni si è fatta carico del mio bagaglio e, sorreggendo le mie ali, ha fatto sì che io oggi mi trovi sulla cima di questa vetta.

Non nascondo che lungo questo viaggio ho trovato, alle volte, salite impervie ed ostacoli imprevisi. Più di una volta ho creduto di non essere in grado di proseguire ed ho pensato che sarebbe stato meglio girare i tacchi e tornare indietro.

Ma poi mi voltavo e trovavo accanto a me tante tantissime persone pronte a prendermi per mano ed a portarmi sempre più in alto.

Il mio ringraziamento più grande va quindi a te, con cui sono cresciuta, tra vacanze al mare e sulla neve, tra i primi giri in motorino di nascosto e i primi amori segreti!

Ringrazio te che da 16 anni sei la mia casa. Potrei scrivere del periodo in cui siamo state lontane, del giorno in cui è uscita una persona dalla mia vita e come per magia sei rientrata te, o di ogni singolo giorno in cui basta uno sguardo per ritrovarci.. ma te sei la mia casa, e tutte queste cose le conosci già! Grazie di cuore!

E quindi ringrazio la mia seconda famiglia, il maneggio “Il Vignaccio”, perché Dio solo sa quante volte in questi anni sono uscita di casa con la luna storta e, una volta messo piede lì, splendeva il sole. Siete la mia gioia, la mia pace, la mia vita..grazie!

Ed è proprio quando credi che sia tutto perduto che il destino ti concede i regali più belli, ed è proprio in quell’ambiente che io ho conosciuto te. Da allora viviamo all’unisono: ogni mio pensiero viaggia sul filo dei tuoi e oggi non sarei la stessa senza le nostre galoppate a rotta di collo, i nostri “ciak”, i nostri “time”... Grazie!

Un grazie sincero va alle mie inseparabili compagne di non-lezione, di esami e di brainstorming.

A te che ti sei seduta vicino a me durante il test di ammissione e, nonostante il “Vomito”, non ti sei più alzata; a te che sei sempre stata “il mio orgoglio” e quel posto lo hai occupato il primo giorno di Università e non lo hai più lasciato.

E come non ringraziare la mia Mimì, la mia compagna di corse nei sacchi a pelo, di studio e di vacanze. Mentre oggi condivido con te un altro momento di felicità, ti ringrazio per tutti quelli che silenziosamente mi hai regalato in questi anni, ti voglio bene Milla!

Ma i “Grazie” al mio mondo cavallaro sono appena iniziati!

Grazie Darling, perché rimarrai per sempre il mio S. Valentino più dolce; grazie “esplosione di tattofobia”, perché essere riuscita ad abbracciarti è stata e rimane tra le cose più belle della Terra. Grazie compagna di birre e di “pane e complimenti”, per le nostre interminabili conversazioni. Grazie Dottore, perché tra una nozione di chirurgia ed una di cucina, hai pazientemente sopportato il mio “Becchime da galline”.

Grazie a chi in questi anni è stata un pò “polemica”, chi un po’ “brontolone”, grazie a chi quel maledetto giorno afferrava con me quella lunghina ed a chi il giorno di Pasqua ha afferrato con me un cosciotto di “anzone”. Mi avete sempre fatto sentire il vostro affetto sulla pelle, e per questo oggi io vi dico Grazie!

Grazie a tutti i miei “vecchi”, per essere state le orme sulla sabbia sopra le quali ho mosso i miei primi passi.

Ma se è vero che il condividere momenti spiacevoli unisce le persone, io, con gli stivali nel letame, ho conosciuto il meraviglioso mondo dei buiatri e me ne sono innamorata.

C’è chi è entrato nella mia vita sotto una doccia di pus&latte, chi sotto una di tequila, chi di hamburger.. ma poco importa come siete entrati, o a quale alimento io vi associ, sta di fatto che adesso fate parte dei miei sorrisi più sinceri e per voi sarà davvero difficile uscirne! Grazie per l’aiuto nei momenti di difficoltà, grazie per esserci stati quando più ne sentivo il bisogno!

Un grazie sincero va quindi alle persone che ho conosciuto a viaggio già intrapreso, per i folli pelosi momenti passati insieme, perché “ce semo voluti bene” e continueremo senz’altro a volersene!

Ringrazio anche chi mi ha accolto nella sua ristrettissima “cerchia sociale”, perché il trovarmi ad interpretare da dietro uno schermo, parole che anche il correttore automatico si è rifiutato di capire, ha sempre riempito questa “brutta persona” di nuova straripante allegria!

Ma la vita alle volte è strana, e mentre nuovi viaggiatori salgono a bordo in prossimità dell'arrivo, così altri con cui hai condiviso tutto il viaggio, scendono dal treno a poche stazioni dal capolinea.

Il mio grazie va anche a loro, per il tempo e per le emozioni che mi hanno regalato.

Eh sì Nonno, in quest'ultimo gruppo di persone rientri anche te, perché quel pomeriggio io sì, ero all'Università, ma il mio cuore non si è mai separato da te. Grazie per avermi insegnato a stringere i denti ed a lottare per ciò che si vuole, grazie per essere tuttora il mio punto di riferimento. Grazie "Primario"!